

POPULACIONO – GENETIČKI ASPEKTI BALKANSKE ENDEMSKE NEFROPATIJE U SLIVU JUŽNE MORAVE

Rade Ćukuranović, Dragoslav Marinković, Snežana Pavlović, Ljiljana Vasović, Slobodan Vljaković, Marija Daković – Bjelaković, Vesna Stojanović, Ivan Jovanović, Slađana Ugrenović i Dejan Zdravković*

Za balkansku endemsku nefropatiju (BEN) zna se već pet decenija. Njena etiologija, nažalost, još uvek nije poznata. Polazeći od pretpostavke da se ispoljavanje BEN može zasnivati na genetičkim dispozicijama pojedinih osoba, u radu je upoređivana populaciono-genetička struktura obolelih od BEN sa populaciono-genetičkom strukturom zdravih (kontrolnih) osoba. U tom smislu je analizirana učestalost 20 anatomofizioloških, slučajno izabranih osobina koje se nalaze pod kontrolom jednog ili malog broja gena sa alternativnim, dominantno-recesivnim načinom ispoljavanja. Pretpostavku da bi se između obolelih od BEN i zdravih osoba mogla naći razlika na nivou testiranih anatomofizioloških karakteristika, moguće je objasniti na najmanje tri načina: a) geni od kojih zavisi ispoljavanje BEN ili otpornost na činioce koji izazivaju ovu bolest mogu istovremeno plejotropno da deluju na čitav niz drugih karakteristika i da se tako putem njih korelativno manifestuju; b) genetička opterećenja koja nastaju usled povećane recesivne homozigotnosti za niz karakteristika, kod osoba obolelih od BEN predstavljaju uzrok smanjene otpornosti na spoljašnje činioce, koji izazivaju ovo oboljenje; c) oboleli od BEN mogu predstavljati potomke imigranata sa različitom populaciono – genetičkom strukturom, koja se može manifestovati i razlikama u učestalosti takvih osobina kao što su npr. kvalitativne anatomofiziološke odlike.

Pet od dvadeset analiziranih recesivnih fenotipova pokazuje statistički značajno veću učestalost među obolelim od BEN, nego među zdravim (kontrolnim) osobama. Imajući u vidu da su analizirane kvalitativne osobine slučajno izabrane i da su pod relativno jednostavnom genetičkom kontrolom, može se pretpostaviti da se genetičke strukture obolelih i zdravih razlikuju u oko 25% genskih alela. Ovakav nalaz sugerise mogućnost asocijacije odgovarajućih genskih alela sa genetičkom osnovom za BEN. Genetička opterećenja, uzrokovana povećanjem recesivne homozigotnosti kod obolelih od BEN, mogla bi predstavljati uzrok smanjene otpornosti na činioce spoljašnje sredine odgovorne za nastanak ovog oboljenja. *Acta Medica Medianae* 2004; 43 (1):11–18.

Ključne reči: balkanska endemska nefropatija, populaciona genetika

Institut za anatomiju Medicinskog fakulteta u Nišu
Prirodno – matematički fakultet Univerziteta u Beogradu*

Kontakt: Rade Ćukuranović
Institut za anatomiju Medicinskog fakulteta, Braće Tasković 81
18000 Niš, Srbija i Crna Gora

Uvod

Balkanska endemska nefropatija (BEN) je hronično, tubulointersticijalno oboljenje bubrega, koje se klinički manifestuje kod odraslog stanovništva seoskih naselja duž pritoka reke Dunav u Bugarskoj, Rumuniji, Srbiji i Crnoj Gori, Bosni i Hercegovini i Hrvatskoj. Odlikuje se žarišnim i porodičnim karakterom, sporim progresivnim tokom prema terminalnom stadijumu hronične bubrežne insuficijencije, dosta čestom udruženošću sa tumorima gornjeg urotelijuma i, još uvek, nepoznatom etiologijom.

U našoj zemlji bolest je prvi opisao Danilović (1957) (1).

Veliki broj hipoteza pokušavao je da objasni prirodu BEN. I dok su neke od njih insistirale na uticaju činioca sredine (infektivnih i toksičnih), druge su preferirale ulogu genetičkih činilaca.

Familijarni karakter oboljenja, njegova pojava kod imigranata u novom mestu življenja, pošteđenost imigranata i određenih etničkih grupa u endemskim područjima i njegovo ispoljavanje u određenom životnom dobu, faktori su koji sugerisu moguću ulogu nasleđa u njegovom nastanku.

U cilju ispitivanja uloge genetičkih činilaca u nastajanju BEN sprovedene su brojne populaciono-genetičke i citogenetičke studije (2–11), istraživanja blizanaca (12,13) i udruženošću ovog oboljenja sa određenim krvno – grupnim sistemima i antigenima histokompatibiliteta (14–17). Međutim, definitivnih rezultata još uvek nema.

Polazeći od pretpostavke da se ispoljavanje BEN može zasnivati na genetičkim dispozicijama određenih osoba činilo se interesantnim upoređivanje populaciono-genetičke strukture obolelih od BEN sa populaciono-genetičkom strukturom zdravih osoba iz endemskih područja. Veoma pogodan način za ustanovljavanje eventualnih razlika između ovih dveju populacija moglo bi biti ispitivanje najmarkantnijih anatomofizioloških obeležja ljudi, koja bi mogla poslužiti kao parametri populaciono-genetičke strukture. Pretpostavku da bi se na nivou ispitivanih fenotipova mogle očekivati razlike između obolelih od BEN i zdravih (kontrolnih) uzoraka moguće je objasniti na najmanje tri načina: a) geni od kojih zavisi ispoljavanje BEN ili otpornost na činioce koji izazivaju ovu bolest mogu istovremeno plejotropno da deluju na čitav niz drugih karakteristika i da se tako putem njih korelativno manifestuju; b) genetička opterećenja koja nastaju usled povećane recesivne homozigotnosti za niz karakteristika, kod osoba obolelih od BEN predstavljaju uzrok smanjene otpornosti na spoljne činioce koji izazivaju ovo oboljenje; c) oboleli od BEN mogu predstavljati potomke emigranata sa različitom populaciono – genetičkom strukturom koja se može manifestovati i razlikama u učestalosti takvih karakteristika kao što su, na primer, kvalitativna anatomofiziološka obeležja.

Materijal i metode

Ispitanici potiču iz dva lokaliteta u dolini Južne Morave, udaljena tridesetak kilometara. Seoska naselja unutar njih su poznata žarišta BEN, a u naseljima između njih do sada nije bilo oboljevanja od ove bolesti. Južni lokalitet, između Niša i Leskovca, obuhvata sela: Brestovac, Kutleš i Pukovac, a severni lokalitet, između Niša i Aleksinca, sela: Mezgraja, Donja Trnava, Nozrina i Lužane. U oba lokaliteta je analizirana grupa obolelih od BEN i grupa zdravih (kontrolnih) osoba, koje su poticale iz porodica u kojima nije bilo ove bolesti i kod kojih dosadašnjim ispitivanjima nisu registrovani znaci bubrežne bolesti. Obe grupe su brojale po 30 ispitanika, odraslog uzrasta i oba pola. Ispitivanjima je tako obuhvaćeno 120 ispitanika sa terena. U studiju je ušla i kontrolna grupa iz Niša, koja se sastojala od 64 dobrovoljna davaoca krvi.

Dijagnoza BEN bazirana je na svim za sada važećim kriterijumima (18).

Polazeći od pretpostavki navedenih u uvodnom delu rada slučajno je izabrano 20 anatomofizioloških karakteristika, koje su sa podjednakim kriterijumima analizirana kod ispitanika svih grupa. Ove karakteristike su odabrane kao kvalitativna svojstva, koja su relativno jednostavno genetički determinisana, tj. nalaze se pod kontrolom jednog ili malog broja gena sa dominantno recesivnim načinom ispoljavanja. Zbog toga su one prikazane na alternativan način, tj. brojem osoba kod kojih je karakteristika bila sa recesivnim ispoljavanjem i brojem ispitanika kod kojih je utvrđeno dominantno svojstvo.

Pre nego što se pristupilo testiranju ispitanika formiran je upitnik sa spiskom recesivnih fenotipova odabranih anatomofizioloških karakteristika. Pri tome

se odgovarajućim znakom (+, -, +) označavalo njihovo prisustvo, odnosno odsustvo kod ispitanika. Zbog objektivnosti kriterijuma za procenu ispoljavanja analiziranih osobina ispitivanje je obavljalo jedno lice. Na osnovu zapažene učestalosti ispitivanih fenotipova izračunata je učestalost odgovarajućih genskih alela, pod uslovnom pretpostavkom da se svaki od prikazanih fenotipova nalazi pod kontrolom, ili pretežinom kontrolom, odgovarajućeg genskog lokusa. Izabrane anatomofiziološke osobine sadržale su najmanje dve fenotipske varijante, neke i više, s tim što je alelska učestalost računata prema krajnje recesivnim oblicima. Nakon ovako dobijenih podataka komparirana je učestalost analiziranih fenotipova, tj. njihovih genskih alela između ispitivanih grupa. Statistička značajnost razlika u učestalosti genskih alela procenjena je preko Međupopulacionog indeksa fiksacije (F_{st}) koji se, prema Wright-u (19) izračunava putem određivanja Wahlund-ove varijanse. Pri tom su razlike u indeksu fiksacije ispitivanih grupa testirane pomoću Hi-kvadrat testa. F_{st} je parametar F statistike koji izražava stepen diferencijacije između lokalnih populacija. On je zapravo mera odstupanja genotipskih proporcija očekivanih na osnovu Hardy-Weinberg-ovih pretpostavki. Tako, $F_{st}=0$ znači da između lokalnih populacija nema razlike, a $F_{st}=1$ znači da su lokalne populacije potpuno različite u pogledu posmatrane karakteristike.

U radu su analizirana i eventualna genetička opterećenja, uzrokovana povećanom recesivnom homozigotnošću u ispitivanim populacijama. Statistička značajnost razlika između dobijenih i očekivanih vrednosti recesivnih homozigota procenjena je pomoću Hi-kvadrat testa. Očekivane vrednosti recesivnih homozigota dobijene su korišćenjem Hardy-Weinberg-ove formule: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, koja važi kada je populacija u genetičkoj ravnoteži.

Rezultati

Tabela 1 prikazuje numeričku, procentualnu i alelsku frekvenciju 20 analiziranih homozigotno recesivnih osobina (HRO) u grupama obolelih od BEN i kontrolnim grupama. Postoje značajne razlike između uzoraka obolelih od BEN i zdravih osoba u učestalosti sledećih fenotipova: prava kosa, mekana kosa, odsustvo rupica u bradi, grleno R, ušni režanj vezan, levorukost, proksimalni zglobovi palca izrazito pokretan i odsustvo dlačica na srednjem članku prstiju ruku. Pri tome su izuzev fenotipova: grleno R i ušni režanj vezani svi ostali nabrojani fenotipovi češći kod obolelih nego kod zdravih osoba.

Tabela 2 pokazuje trend recesivnih fenotipova, čija je učestalost statistički značajno različita kod upoređivanih grupa ispitanika. Pet recesivnih fenotipova su statistički značajno češći među obolelim od BEN u oba lokaliteta nego kod zdravih osoba iz istih područja: prava kosa, mekana kosa, odsustvo rupice u bradi, levorukost i odsustvo dlačica na srednjem članku prstiju ruku. Još tri fenotipa su češća kod obolelih nego kod zdravih iz Niša: razdvojene obrve, neosetljivost na gorak ukus feniltiokarbamida (PCT) i proksimalni zglobovi palca izrazito pokretan. Evidentne

Tabela 1. Učestalost recesivnih fenotipova i odgovarajućih genskih alela (q) u ispitivanim grupama

| Redni broj | Homozigotne recesivne osobine | BEN1 | | | BEN2 | | | K1 | | | K2 | | | K3 | | |
|------------|--|------|-------|------|------|-------|------|----|-------|------|----|-------|------|----|------|------|
| | | No | % | q | No | % | q | No | % | q | No | % | q | No | % | q |
| 1 | Ravan skalp | 8 | 26,7 | 0,52 | 15 | 50,0 | 0,71 | 11 | 36,7 | 0,60 | 11 | 36,7 | 0,60 | 22 | 34,4 | 0,59 |
| 2 | Prava kosa | 29 | 96,7 | 0,98 | 29 | 96,7 | 0,98 | 26 | 86,7 | 0,89 | 24 | 80,0 | 0,89 | 51 | 79,7 | 0,89 |
| 3 | Mekana kosa | 24 | 80,0 | 0,89 | 27 | 90,0 | 0,95 | 18 | 60,0 | 0,41 | 5 | 16,7 | 0,41 | 7 | 10,9 | 0,33 |
| 4 | Plava kosa | 3 | 10,0 | 0,32 | 6 | 20,0 | 0,45 | 4 | 13,3 | 0,26 | 2 | 6,7 | 0,26 | 14 | 21,9 | 0,47 |
| 5 | Nisko čelo | 0 | 0,0 | 0,00 | 2 | 6,7 | 0,26 | 3 | 10,0 | 0,32 | 3 | 10,0 | 0,32 | 0 | 0,0 | 0,00 |
| 6 | Razdvojene obrve | 27 | 90,03 | 0,95 | 29 | 96,7 | 0,98 | 30 | 100,0 | 1,00 | 30 | 100,0 | 1,00 | 40 | 62,5 | 0,79 |
| 7 | Plave oči | 9 | 30,0 | 0,55 | 14 | 46,7 | 0,68 | 10 | 33,3 | 0,45 | 6 | 20,0 | 0,45 | 31 | 48,4 | 0,69 |
| 8 | Daltonizam | 0 | 0,0 | 0,00 | 1 | 3,3 | 0,18 | 1 | 3,3 | 0,00 | 0 | 0,0 | 0,00 | 1 | 1,6 | 0,12 |
| 9 | Uzano lice | 17 | 56,7 | 0,75 | 25 | 83,3 | 0,91 | 20 | 66,7 | 0,79 | 19 | 63,3 | 0,79 | 34 | 53,1 | 0,73 |
| 10 | Prav nos | 29 | 96,7 | 0,98 | 30 | 100,0 | 1,00 | 30 | 100,0 | 0,95 | 27 | 90,0 | 0,95 | 61 | 95,3 | 0,98 |
| 11 | Odsustvo rupice u bradi | 28 | 93,3 | 0,96 | 27 | 90,0 | 0,95 | 21 | 70,0 | 0,84 | 21 | 70,0 | 0,84 | 28 | 43,7 | 0,66 |
| 12 | Nesposobnost uzdužnog savijanja jezika | 8 | 26,7 | 0,52 | 15 | 50,0 | 0,71 | 12 | 40,0 | 0,60 | 11 | 36,7 | 0,60 | 26 | 40,7 | 0,64 |
| 13 | Grleno «R» | 1 | 3,3 | 0,18 | 1 | 3,3 | 0,18 | 0 | 0,0 | 0,26 | 2 | 6,7 | 0,26 | 4 | 6,2 | 0,25 |
| 14 | Neosetljivost za gorak ukus PTC | 11 | 36,7 | 0,60 | 9 | 30,0 | 0,55 | 15 | 50,0 | 0,48 | 7 | 23,3 | 0,48 | 9 | 14,0 | 0,37 |
| 15 | Ušni režanj vezan | 5 | 16,7 | 0,41 | 2 | 6,7 | 0,26 | 8 | 26,7 | 0,41 | 5 | 16,7 | 0,41 | 17 | 26,6 | 0,51 |
| 16 | Levorukost | 3 | 10,0 | 0,32 | 5 | 16,7 | 0,41 | 1 | 3,3 | 0,00 | 0 | 0,0 | 0,00 | 7 | 10,9 | 0,33 |
| 17 | Distalna hiperekstenzibilnost palca | 3 | 10,0 | 0,32 | 2 | 6,7 | 0,26 | 2 | 6,7 | 0,48 | 7 | 23,3 | 0,48 | 7 | 10,9 | 0,33 |
| 18 | Proksimalni zglobov palca izrazito pokretan | 6 | 20,0 | 0,45 | 6 | 20,0 | 0,45 | 4 | 13,3 | 0,45 | 6 | 20,0 | 0,45 | 6 | 9,4 | 0,31 |
| 19 | Odsustvo dlačica na srednjem članku prstiju ruku | 20 | 66,7 | 0,82 | 20 | 66,7 | 0,82 | 14 | 46,7 | 0,66 | 13 | 43,3 | 0,66 | 24 | 37,5 | 0,61 |
| 20 | Preklapanje palca (desni gore) | 16 | 53,3 | 0,73 | 9 | 30,0 | 0,55 | 17 | 56,7 | 0,60 | 11 | 36,7 | 0,60 | 36 | 56,2 | 0,75 |

BEN₁-oboleli iz severnog lokaliteta

BEN₂-oboleli iz južnog lokaliteta

K₁-kontrolna grupa iz severnog lokaliteta

K₂-kontrolna grupa iz južnog lokaliteta

K₃-kontrolna grupa iz Niša

Tabela 2. Trend recesivnih fenotipova čija je učestalost statistički značajno različita kod upoređenih grupa ispitanika

| Redni broj | Homozigotne recesivne osobine | BEN ₁₋₂ :K ₁₋₂ | BEN ₁₋₂ :K ₃ | K ₁₋₂ :K ₃ |
|------------|--|--------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | Ravan skalp | | | |
| 2 | Prava kosa | > | > | |
| 3 | Mekana kosa | > | > | |
| 4 | Plava kosa | | | |
| 5 | Nisko čelo | | | < |
| 6 | Razdvojene obrve | | > | > |
| 7 | Plave oči | | | > |
| 8 | Daltonizam | | | < |
| 9 | Uzano lice | | | |
| 10 | Prav nos | | | |
| 11 | Odsustvo rupice u bradi | > | > | > |
| 12 | Nesposobnost uzdužnog savijanja jezika | | | |
| 13 | Grleno «R» | | | |
| 14 | Neosetljivost za gorak ukus PTC | | > | > |
| 15 | Ušni režanj vezan | | | |
| 16 | Levorukost | < | | < |
| 17 | Distalna hiperekstenzibilnost palca | | | |
| 18 | Proksimalni zglobovi palca izrazito pokretan | | > | |
| 19 | Odsustvo dlačica na srednjem članku prstiju ruku | > | > | |
| 20 | Preklapanje palca (desni gore) | | | |

BEN₁₋₂-oboleli iz oba lokaliteta BEN; K₁₋₂-zdrave osobe iz oba lokaliteta BEN; K₃-kontrolna grupa iz Niša

su i značajne razlike u učestalosti niza analiziranih fenotipova između kontrolnih grupa endemskih područja i kontrole iz Niša. Nisko čelo, razdvojene obrve, odsustvo rupice u bradi i neosetljivost na gorak ukus PCT su fenotipovi statistički značajno češći kod zdravih osoba endemskih područja, dok su fenotipovi: plava kosa, plave oči i levorukost češći kod zdravih osoba iz Niša.

Hi-kvadrat razlike između brojeva nađenih i očekivanih recesivnih homozigota u grupama obolelih od BEN date su u tabeli 3. One su znatnije na nivou većeg broja fenotipova, ali su statistički značajne kod sledećih: levorukost, mekana kosa, plava kosa i plave oči. Pri tome su analizirani recesivni fenotipovi, tj. odgovarajući genotipovi, među obolelim od BEN češći nego što bi se moglo očekivati (odnosno od njihove učestalosti u populaciji zdravih osoba). Evidentne razlike u frekvenciji genotipova ukazuju na to da je narušena ravnoteža na nivou pojedinih genotipova u delu populacije koji je zahvaćen BEN, pri čemu recesivni homozigoti postaju češći, a heterozigoti, obrnuto, ređi. Na bazi ovih podataka i podataka o učestalosti odgovarajućih recesivnih alela, moglo bi se zaključiti da se genetička struktura obolelih od BEN u izvesnoj meri razlikuje od genetičke strukture opšte populacije kojoj i sami pripadaju.

Distribucija frekvencija analiziranih HRO u grupi obolelih od BEN (BEN₁₋₂) i u kontrolnim grupama (K₁₋₂ i K₃) data je na tabeli 4 i grafikonu 1. Pri tome, podaci o frekvenciji recesivnih fenotipova u grupi obolelih (BEN₁₋₂) i kontrolnoj grupi iz endemskih područja (K₁₋₂) predstavljaju integrisane podatke pojedinačnih

grupa obolelih, odnosno zdravih (kontrolnih) osoba iz tih područja. Među obolelim minimalni broj recesivnih karakteristika je 5, a maksimalan 13. Kod ispitanika prve kontrolne grupe (K₁₋₂) minimalan broj recesivnih fenotipova je 4, a maksimalan 11. Ispitanici iz kontrolne grupe iz Niša (K₃) nisu imali manje od 3 a ni više od 11 recesivnih osobina. Pri tome, najveći broj obolelih je posedovao 8 do 10 HRO, najveći broj ispitanika prve kontrolne grupe (K₁₋₂) je imao njih 7, dok je 6, odnosno 7, ovakvih obeležja registrovano u najvećem broju ispitanika kontrolne grupe iz Niša (K₃). Na osnovu ovih podataka može se zaključiti da se oboleli od BEN odlikuju značajno većom recesivnom homozigotnošću od iste kod zdravih (kontrolnih) osoba. Naime, oboleli od BEN imaju u proseku 8,7 HRO (tj. oko 45% od 20 analiziranih obeležja), dok zdrave osobe iz Niša poseduju prosečno 6,7, tj. oko 30% takvih osobina (p<0,001). Pri tome je prosečna vrednost sadržanih recesivnih fenotipova kod zdravih stanovnika endemskih naselja (K₁₋₂) gotovo na sredini između dveju gore navedenih vrednosti (tj. 7,6 ili 38%), od kojih se statistički značajno razlikuje.

Tabela 5 pokazuje distribuciju frekvencija 20 HRO kod obolelih od BEN, u odnosu na njihov pol, uzrast, funkciju bubrega i prisustvo tumora urotrakta, odnosno tumora drugih lokalizacija. Evidentna je značajna korelacija između broja recesivnih karakteristika i stepena oštećenja bubrežne funkcije. Naime, sa povećanjem broja HRO kod bolesnika sa BEN sve su češći teži stepeni bubrežne insuficijencije. Povećanje broja HRO prati i povećanje učestalosti tumora, naročito tumora urotrakta. Pri svemu tome su bolesnici

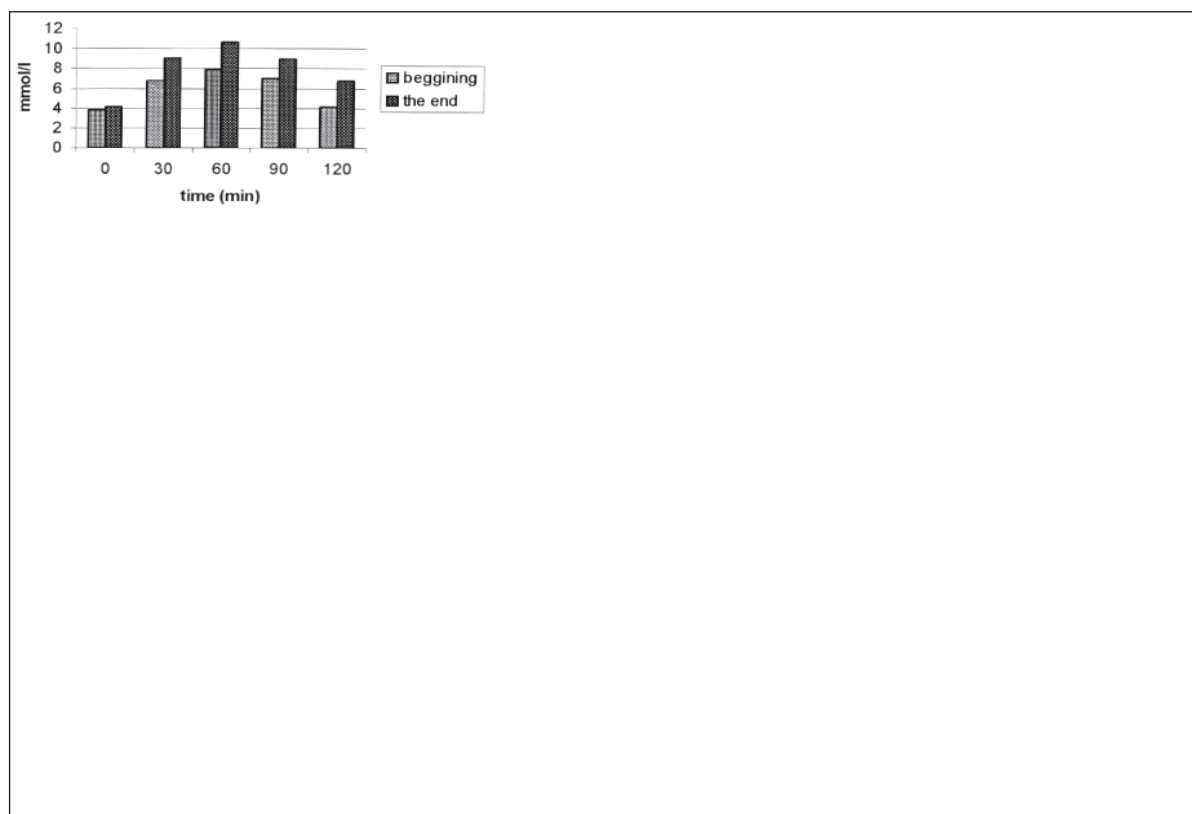
Tabela 3. Hi-kvadrat razlike između brojeva nađenih i očekivanih recesivnih homozigota u grupama obolelih od BEN

| Redni broj | Homozigotne recesivne osobine | BEN ₁ bolesnici | | BEN ₂ bolesnici | |
|------------|--|----------------------------|-------|----------------------------|--------|
| | | χ^2 | p | χ^2 | p |
| 1 | Ravan skalp | 0,818 | | 1,454 | |
| 2 | Prava kosa | 0,346 | | 1,042 | |
| 3 | Mekana kosa | 2,000 | | 96,800 | <0,001 |
| 4 | Plava kosa | 0,250 | | 8,000 | <0,01 |
| 5 | Nisko čelo | 3,000 | | 0,333 | |
| 6 | Razdvojene obrve | 3,000 | | 0,333 | |
| 7 | Plave oči | 0,100 | | 10,667 | <0,01 |
| 8 | Daltonizam | 1,000 | | 0,000 | |
| 9 | Uzano lice | 0,450 | | 1,895 | |
| 10 | Prav nos | 0,033 | | 0,333 | |
| 11 | Odsustvo rupice u bradi | 2,333 | | 1,714 | |
| 12 | Nesposobnost uzdužnog savijanja jezika | 1,333 | | 1,454 | |
| 13 | Grleno «R» | 0,000 | | 0,500 | |
| 14 | Neosjetljivost za gorak ukus PTC | 1,067 | | 0,571 | |
| 15 | Ušni režanj vezan | 1,125 | | 1,800 | |
| 16 | Levorukost | 4,000 | <0,05 | 0,000 | |
| 17 | Distalna hiperekstenzibilnost palca | 0,500 | | 3,571 | |
| 18 | Proksimalni zglob palca izrazito pokretan | 1,000 | | 0,000 | |
| 19 | Odsustvo dlačica na srednjem članku prstiju ruku | 2,571 | | 3,769 | |
| 20 | Preklapanje palca (desni gore) | 0,059 | | 0,364 | |

BEN₁ – oboleli iz severnog lokalitetaBEN₂ – oboleli iz južnog lokalitetaTabela 4. Distribucija frekvencije 20 homozigotnih recesivnih osobina (HRO) u grupi obolelih od BEN i u kontrolnim grupama (K_{1,2} i K₃)

| Broj HRO | BEN _{1,2} (N=60) | K _{1,2} (N=60) | K ₃ (N=64) |
|----------|------------------------------|----------------------------|--------------------------|
| 3 | | | 3 |
| 4 | | 1 | 8 |
| 5 | 1 | 3 | 5 |
| 6 | 3 | 5 | 15 |
| 7 | 10 | 21 | 15 |
| 8 | 16 | 12 | 7 |
| 9 | 9 | 11 | 5 |
| 10 | 14 | 5 | 2 |
| 11 | 4 | 2 | 4 |
| 12 | 1 | | |
| 13 | 2 | | |
| | X=8,73±1,68 | X=7,63±1,42 | X=6,66±2,02 |

BEN_{1,2}-oboleli iz oba lokaliteta BENK_{1,2}-zdrave osobe iz oba lokaliteta BENK₃-kontrolna grupa iz NišaBEN_{1,2}:K_{1,2} t=3,87 (p<0,001)BEN_{1,2}:K₃ t=6,21 (p<0,001)K_{1,2}:K₃ t=3,09 (p<0,01)



Grafikon 1. Distribucija frekvencija homozigotno recesivnih osobina u grupi obolelih od BEN i kontrolnim grupama

Tabela 5. Distribucija frekvencija 20 homozigotno recesivnih osobina (HRO) kod obolelih od BEN u odnosu na pol, uzrast, funkciju bubrega i tumore bubrega i ostalih lokalizacija

| Broj HRO | Pol | | Starost (god) | Procentualna zastupljenost bubrežne insuficijencije | | | Procentualna zastupljenost tumora | |
|----------|-------|--------|---------------|---|---------|------------|-----------------------------------|---------------------|
| | muški | ženski | | početne | odmakle | terminalne | urotrakta | drugih lokalizacija |
| 5 | 1 | - | 65,0 | 100 | - | - | - | - |
| 6 | 2 | 1 | 60,7 (54-71) | 33 | 33 | 33 | 33,3 | - |
| 7 | 5 | 5 | 55,6 (46-67) | 10 | 50 | 40 | 10 | 10 |
| 8 | 11 | 5 | 60,2 (48-74) | - | 18 | 82 | 12,5 | - |
| 9 | 4 | 5 | 62,1 (52-69) | 11,1 | 33,3 | 55,5 | 22,2 | 11,1 |
| 10 | 6 | 8 | 59,0 (51-69) | 14,3 | 14,3 | 71,4 | 7,14 | - |
| 11 | 1 | 3 | 55,5 (48-61) | 25 | 50 | 25 | - | - |
| 12 | - | 1 | 54,0 | - | 100 | - | - | - |
| 13 | 1 | 1 | 55,5 (53-58) | - | 50 | 50 | - | - |

a – serumski kreatinin $\leq 150 \mu\text{mol/l}$

b – serumski kreatinin $> 150 \mu\text{mol/l}$

c – bolesnici na hroničnom programu dijalize

unutar grupa sa različitim brojem prisutnih HRO dosta ravnomerno distribuirani u odnosu na uzrast i pol.

Diskusija

Rezultati dobijeni ovom studijom delimično bi mogli ići u prilog hipotezama na kojima ona počiva.

Naime, populaciono-genetičke strukture obolelih od BEN i kontrolnih grupa razlikuju se na nivou 5 od 20 analiziranih recesivnih fenotipova. Ova-

kav nalaz je dosta interesantan ako se uzme u obzir činjenica da su analizirane anatomofiziološke karakteristike slučajno izabrane. On sugerise znatne razlike u genetičkoj strukturi obolelih i zdravih osoba, znatno veće nego što su one prema podacima u literaturi uobičajene između različitih populacija (20). Zapravo, smatra se da čitavih 85% celokupne genetičke varijabilnosti kod ljudi nalazi se u svakoj pojedinačnoj populaciji, dok je 7,5% varijabilnosti zasnovano na razlikama koje postoje između različitih populacija

iste „rase“, a preostalih 7,5% na pripadnosti ljudi nekoj od rasa. Značaj verifikovanih razlika verovatno ne može umanjiti činjenica da se analizirane grupe donekle razlikuju po prosečnoj starosti. Ovo stoga što se analizirane anatomofiziološke osobine uglavnom ne menjaju tokom života, tako da starosne razlike nemaju većeg uticaja na dobijene rezultate.

Rezultati dobijeni ovom studijom dozvoljavaju mogućnost poligenog nasleđivanja BEN sa nedovoljnom ekspresivnošću glavnog gena (3), ali i mogućnost monogenskog nasleđivanja (gen sa nekompletnom penetrabilnošću) (6). U oba slučaja moguće je pretpostaviti da gen ili geni, koji kontrolišu sklonost ili otpornost prema oboljevanju od BEN plejotropno deluju na neke od analiziranih anatomofizioloških osobina.

Hipoteza da bi genetička opterećenja, nastala usled povećane recesivne homozigotnosti, kod obolelih od BEN mogla predstavljati uzrok smanjene otpornosti na spoljne činioce odgovorne za nastanak ovog oboljenja, ovim istraživanjima je dobila značajnu potporu. Naime, dobijeni rezultati pokazuju značajno povećanje recesivne homozigotnosti kod obolelih od BEN, u odnosu na zdrave (kontrolne) osobe. Ovo se ogleda, s jedne strane, u narušenoj ravnoteži između pojedinih genotipova u delovima populacije koji su zahvaćeni BEN (na račun povećane frekvence recesivnih homozigota), a sa druge strane u povećanoj akumulaciji recesivnih fenotipova kod obolelih od BEN. S obzirom na to da genetička opterećenja u suštini smanjuju stepen adaptiranosti jedinki populacija, to bi ona kod obolelih od BEN mogla imati za posledicu ne samo smanjenu otpornost prema ovoj, već možda i prema drugim bolestima, npr. tumorima urinarnog trakta (21-23) i tumorima drugih lokalizacija. Možda su ona odgovorna i za povećanu učestalost kongenitalnih malformacija urinarnog trakta kod dece iz porodica bolesnika sa BEN (24). Rezultati dobijeni ovim istraživanjima nameću potrebu traganja za faktorima koji su mogli usloviti narušavanje genetičke ravnoteže populacija zahvaćenih BEN.

Najzad, hipoteza da bi oboleli od BEN mogli predstavljati potomke imigranata sa različitom populaciono-genetičkom strukturom, koja bi se mogla ogledati i u različitoj zastupljenosti izvesnih anatomofizioloških karakteristika, još uvek se ne može odbaciti. Njoj u prilog idu nalazi relativno velike populaciono-genetičke heterogenosti između grupa ispitanika unutar dva lokaliteta sa BEN, analizirana u ovoj studiji. I mada ovakav stav podržavaju shvatanja da je BEN bolest određenih etničkih grupa (25), neka novija istraživanja ga ozbiljno dovode u pitanje (8).

Treba, međutim, naglasiti da značaj rezultata dobijenih ovom studijom donekle umanjuju izvesni objektivni, ali i subjektivni faktori. Pre svega mogućnost grešaka u samoj proceni analiziranih anatomofizioloških svojstava, što nameće pitanje reproducibilnosti ovakvih ispitivanja. Potom, nesavršenost same metodologije za obradu ovih podataka. Takođe, još uvek neraščišćena pitanja vezana za genetičku kontrolu jednog broja ispitivanih osobina. Najzad, to što ovom studijom (i na isti način) nije obuhvaćeno još koje endemsko područje.

Zaključak

Na bazi svega rečenog može se zaključiti sledeće:

Pet od dvadeset analiziranih recesivnih fenotipova pokazuje statistički značajno veću učestalost među obolelima od BEN, nego među zdravim (kontrolnim) osobama. Imajući u vidu to da su analizirane kvalitativne osobine slučajno izabrane, kao i to da su pod relativno jednostavnom genetičkom kontrolom, može se pretpostaviti da se genetička struktura obolelih i zdravih razlikuju u približno 25% genskih alela. Ovakav nalaz sugeriše mogućnost asocijacije odgovarajućih genskih alela sa genetičkom osnovom za BEN. Genetička opterećenja, uzrokovana povećanjem recesivne homozigotnosti kod obolelih od BEN, mogla bi predstavljati uzrok smanjene otpornosti na činioce spoljašnje sredine odgovorne za nastanak ovog oboljenja.

Literatura

1. Danilović V, Đurišić M, Mokranjac M, Stojimirović B, Živojinović J, Stojković P. Porodična oboljenja bubrega u selu Šopić izazvana hroničnom intoksikacijom olovom. *Srp Arh Celok Lek* 1957; 85 (10): 115 – 25.
2. Hrisoho D. Genetski faktori u etiologiji endemske nefropatije. *Medicinski glasnik* 1970; 6: 261 – 5.
3. Marinković D, Živković S, Milošević M. Populaciono-genetska i citogenetska ispitivanja endemske nefropatije. *Genetika* 1970; 2 (2): 171 – 6.
4. Bruckner I, Motoiu I. Chromosomal changes in Balkan nephropathy. *Lancet* 1974; 1: 348 – 52.
5. Milošević M, Marinković D, Živković S. Population-genetic and Cytogenetic Studies on Endemic Nephropathy. In: Puchlev et al., (ed) *Proc. 2nd Int. Symp. on Endemic Nephropathy*, Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, 1974; 276–80.
6. Tucić N, Marinković D. The interitance of liability to Balkan Nephropathy. *Genetika* 1979; 11 (3): 213 – 9.
7. Mihailov T. Genealogical Status of Balkan Endemic Nephropathy in Bulgaria. In: S. Strahinjić and V. Stefanović, editors. *Proc. 4th Symp. on Endemic (Balkan) Nephropathy*; Niš, Yugoslavia. University Press: 1979; 247 – 52.
8. Ćeović S, Hrabar A, Radonić M. An etiological approach to Balkan endemic nephropathy based on investigation of two genetically different populations. *Nephron* 1985; 40: 175 – 9.
9. Ćukuranović R. Ispitivanje uloga nasleđa u nastanku endemske nefropatije, Magistarska teza. Niš: Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu; 1985.
10. Toncheva D, Dimitrov T, Tzoneva M. Cytogenetic Studies in Balkan Endemic Nephropathy. *Nephron* 1988; 48: 18 – 21.

11. Blagojević J, Marinković D, Radovanović Z. Population-genetic studies of Endemic (Balkan) nephropathy in the surrounding of Loznica. *Genetika* 1989; 21: 83 – 94.
12. Janković N, Milenković M, Strahinjić S, Janković Ž. Ispitivanje blizanaca na endemskom području. U: *Endemska nefropatija*. Niš: Univerzitet u Nišu; 1971. p. 226 – 8.
13. Milošević M. Genetski faktori kod endemske nefropatije. U: *Endemska nefropatija*. Niš: Univerzitet u Nišu; 1971. p. 5 – 10.
14. Martinović K, Pašić I, Helibašić A, Čurčić B. Eventualna determinacija endemske nefropatije preko ABO sistema. U: *Zbornik radova I kongresa nefrologa Jugoslavije*. Lazarevac: Institut za endemsku nefropatiju. 1981; 113 – 7.
15. Čukuranović R, Strahinjić S, Stefanović V, Savić V, Raičević R, Mitrović M. Ispitivanje nekih genetičkih markera kod bolesnika sa Balkanskom (endemskom) nefropatijom. *Acta facultatis medicae naissensis* 1986; 6: 98 – 105.
16. Minev M, Mikhaylov A, Nylassy S, Mentel G. HLA system and Balkan Endemic Nephropathy. *Tissue Antigens* 1978; 11: 50 – 4.
17. Đurinović-Bello I, Čeočić S, Stefanović V, Kaštelan A. A study of Endemic (Balkan) Nephropathy with a View to Association with Histocompatibility (HLA) Antigens. *Population and Family Studies*. In: S. Strahinjić and V. Stefanović (ed) *Proc. 4th Symp. on Endemic (Balkan) Nephropathy*. Niš, University Press: 1979; 69 – 76.
18. Stefanović V, Polenaković M. Balkan Nephropathy. Kidney disease beyond the Balkans? *Am J Nephrol* 1991; 11: 1 – 11.
19. Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 1965; 9, 395 – 420.
20. Marinković D, Tucić N, Kekić V. *Genetika*. Beograd: Naučna knjiga; 1991.
21. Danilović V, Stojimirović B, Bogdanović M. Clinics of chronic nephritis in Kolubara. *Bull Inst Hyg* 1959; 8 (3): 43 – 51.
22. Atanassov N, Donovski L, Kumanov H. Tumors of the urinary passages in endemic nephropathy. In: *Endemic (Balkan) Nephropathy*. Sofia: Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences: 1974; 117 – 23.
23. Sindić M, Stojimirović B, Cvetković D, Lastić S. Tumors of the urinary system and endemic nephropathy in Serbia-the region of Kolubara River. In: *Endemic Nephropathy*. Sofia Publishing House of the Bulgarian Academy of Science 1984; 174 – 7.
24. Čalić-Perišić N, Popović-Rolović M, Đukić-Urošević D, Sindić M, Mančić J, Negovanović D, i sar. Rezultati ispitivanja dece iz porodica sa endemskom nefropatijom. U: *I kongres nefrologa Jugoslavije, Zbornik radova*. Lazarevac: Institut za endemsku nefropatiju; 1981; 129 – 33.
25. Bulić F. The Possible Role of Genetic Factors in the Etiology of the Balkan Nephropathy. In: G.E.W. Wolsenholme and J. Knight (ed) *The Balkan Nephropathy*. London : J. and A Churchill Ltd 1967; 17 – 27.

POPULATION AND GENETIC ASPECTS OF THE BALKAN ENDEMIC NEPHROPATHY IN THE BASIN OF SOUTH MORAVA RIVER

*Rade Cukuranovic, Dragoslav Marinkovic, Snezana Pavlovic, Ljiljana Vasovic,
Slobodan Vljakovic, Marija Dakovic – Bjelakovic, Vesna Stojanovic, Ivan Jovanovic,
Sladjana Ugrenovic and Dejan Zdravkovic*

The balkan endemic nephropathy (BEN) has been known for five decades. Its etiology, however, has remained unknown so far. Starting from the assumption that the existence of BEN can be based upon the genetic dispositions of certain individuals, the population and genetic structure of BEN patients is compared in practice to the population and genetic structure of healthy (control) individuals. Accordingly, the frequency of 20 anatomical and physiological characteristics, selected by chance, which are controlled by several or very little genes with alternative, dominantly recessive mode of expression is analysed. The assumption of the possibility of discovering differences among BEN patients and healthy people at the level of tested anatomical and physiological characteristics can be explained in at least three ways: a) the appearance of BEN and immunity to factors which cause the disease depend of genes which simultaneously exert a pleotropical influence over the whole number of other characteristics, and hence manifest themselves correlatively; b) genetic disturbances originating from the increased recessive homozygoticity to a number of characteristics are the reason for decreased immunity to external factors which may cause this disease. c) BEN patients may be descendants of immigrants with different population and genetic structure which can also be manifested through different frequencies of characteristics such as, qualitative anatomical and physiological characteristics.

Five out of 20 analysed patients recessive phenotypes express a significantly greater frequency among BEN patients than among healthy (control subjects). Considering that the analysed qualitative characteristics have been selected by chance and that they are under relatively simple genetic control, it can be assumed that the genetic structures of the patients differ from those of the healthy people in approximately 25% of gene alleles. Medical findings suggest the possibility of the association of the corresponding gene alleles with the genetic base for BEN. Genetic disturbances influenced by the increase of recessive homozygotism of BEN patients could represent the cause of decreased immunity to external factors responsible for the onset of the disease. *Acta Medica Medianae* 2004; 43(1):11–18.

Key words: balkan endemic nephropathy, population genetics