

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ CD14, TNF α И FCGR2A У БОЛЬНЫХ ГРИППОМ А H1N1 В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

Петров А.А., Страмбовская Н.Н., Говорин А.В.,
Витковский Ю.А.

Кафедра нормальной физиологии с курсом клинической физиологии ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита

Резюме. Проведено исследование частоты генетического полиморфизма CD14 C-159T, TNF α G-308A и FCGR2A His166Arg у больных пандемическим гриппом А H1N1 в Забайкальском крае. Установлено, что распространенность аллельных вариантов TNF α G-308A и CD14 C-159T одинакова у больных и в группе контроля. С-аллель полиморфизма CD14 C-159T ассоциирована с тяжелым и осложненным течением заболевания. Гаплотип [CD14 (159CC); FCGR2A (166Arg/Arg)], выявленный в двух случаях, привел к молниеносному течению заболевания и смерти пациентов.

Ключевые слова: CD14, TNF α , полиморфизм генов, FCGR2A при гриппе А H1N1

Petrov A.A., Strambovskaya N.N., Govorin A.V., Vitkovsky Yu.A.

GENETIC POLYMORPHISMS OF CD14, TNFA AND FCGR2A IN THE PATIENTS WITH INFLUENZA A H1N1 IN TRANSBAIKALIA REGION

Abstract. Relative frequencies of CD14 C-159T, TNF α G-308A and FCGR2A His166Arg genetic polymorphisms were studied in the patients with pandemic influenza A H1N1 in Transbaikalia Region. We have revealed that prevalences of allelic TNF α G-308A and CD14 C-159T variants were identical among the patients and in control group. With CD14 C-159T polymorphism, a C allele proved to be associated with severe and complicated clinical course of disease. The [CD14 (159CC); FCGR2A (166Arg/Arg)] haplotype registered in two cases, was associated with fulminant course and fatal outcomes of the disease. (*Med. Immunol.*, 2011, vol. 13, N 1, pp 83-86)

Keywords: CD14, TNF α , FCGR2A, gene polymorphism, influenza A H1N1

Несмотря на проводимые в Забайкалье противоэпидемические мероприятия, мощную противовирусную и антибактериальную терапию, вспышка пандемического гриппа А H1N1 в 2009 г. протекала с высоким уровнем заболеваемости, смертности и большим процентом развития легочных осложнений. Звенья патогенеза данных состояний остаются неуточнен-

ными [4]. В реализации иммунного ответа, при ряде инфекционных заболеваний, существенную роль играет генетический полиморфизм цитокинов [2]. Полиморфизм рецептора CD14 C-159T описан М. Baldini et al. в 1999 г. Известно, что существует взаимосвязь генотипа ТТ с высокими плазменными уровнями циркулирующей фракции CD14 и IgE [5]. Доказано, что СС-аллель этого полиморфизма связана с осложненным течением тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС) [16]. Отмечено, что при сепсисе Т-аллель полиморфизма С-159Т встречается чаще и ассоциируется с тяжелым течением и летальностью [10]. Полиморфизм промотора TNF α G-308A описан А.Г. Wilson et al в 1992 г. Доказано, что носительство А-аллели усиливает генную

Адрес для переписки:

Витковский Юрий Антонович,
Читинская медицинская академия
672000, г. Чита, ул. Горького, 39-А.
Тел.: (3022) 32-16-23.
Факс: (3022) 32-30-58.
E-mail: yuvitkovsky@rambler.ru

экспрессию и секрецию TNF α [6, 7]. А.В. Карпова с соавт. (2008) выявили связь А-аллели этой мутации с atopическим дерматитом. Имеются данные о том, что при бронхиальной астме частота встречаемости генотипа АА у больных значительно выше, чем в группе контроля [13]. Хотя в литературе не описана мутация FCGR2A His166Arg, известны результаты изучения полиморфизма His131Arg. Установлено, что носительство генотипа Arg/Arg отягощает течение бактериальных пневмоний [17], тогда как аллель His определяет благоприятный прогноз [16]. CD14, TNF α и FCGR2A являются облигатными участниками воспалительного процесса, однако изучение вклада полиморфизма генов этих белков в патогенез гриппа А H1N1 не проводилось.

Целью нашей работы явилось исследование частоты генетических полиморфизмов CD14 C-159T, TNF α G-308A, FCGR2A His166Arg у больных пандемическим гриппом А H1N1 и оценка их влияния на клиническое течение заболевания.

Под наблюдением находились 44 пациента с лабораторно подтвержденным гриппом А H1N1 (17 мужчин и 27 женщин) в возрасте от 2 до 61 года. Средний возраст составил 31 ± 14 лет. Тяжелое течение заболевания наблюдалось у 25 пациентов. Грипп средней степени тяжести выявлен у 19 пациентов.

Группу сравнения составили 25 резидентов (средний возраст 21 ± 7 лет), не болевших гриппом и ОРВИ во время эпидемии (период с октября 2009 г. по апрель 2010 г.).

Выявление генетического полиморфизма проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией продукта амплификации в 3% агарозном геле наборами реактивов ООО «Литех» (Москва).

Статистическая обработка проводилась с использованием критерия χ^2 и t Стьюдента. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Установлено, что в группе контроля частоты аллельных вариантов полиморфизма CD14 C-159T существенно не отличались от распространенности признака в группе больных (табл. 1). Однако из 24 пациентов с генотипом СС 17 человек (70%)

имели тяжелое течение гриппа. Из 14 человек с генотипом СТ 10 больных (65%) страдали гриппом тяжелой степени, тогда как только у двух заболевших (34%) с генотипом ТТ болезнь носила тяжелый характер (рис. 1).

Распространенность генетических вариантов полиморфизма TNF α G-308A у больных пандемическим гриппом и в группе контроля оказалась одинаковой (табл. 1). Мы не обнаружили гомозиготной аллели АА у пациентов с гриппом и у лиц контрольной группы. Взаимосвязь между тяжестью течения заболевания и генотипом GA не установлена.

Изучение полиморфизма FCGR2A проводилось только у 41 пациента (табл. 1). Ассоциации между степенью тяжести заболевания и генетической характеристикой FCGR2A также не отмечено.

У двух больных выявлен гаплотип [CD14 (159CC); FCGR2A (166Arg/Arg)]. Грипп А H1N1 у этих пациентов протекал в тяжелой молниеносной форме, и заболевание закончилось летальным исходом.

Полученные нами данные согласуются с исследованиями F.F. Yuan et al. (2007), в которых показано, что распространенность СС-генотипа полиморфизма значительно выше у пациентов с тяжелой формой ТОРС, чем у лиц с умеренным течением заболевания или в группе контроля. Тем не менее при ОРВИ, вызванной респираторным синцитиальным вирусом, ассоциации между тяжестью течения болезни и генетической характеристикой CD14 не выявлено [12].

Известно, что растворимая циркулирующая молекула CD14 (sCD14) так же, как и рецептор, способна связывать Lps и взаимодействовать с клетками, которые недостаточно экспрессируют CD14 [8]. Возможно, склонность к более благоприятному протеканию гриппа А H1N1 у носителей генотипа ТТ связана с высокой промоторной активностью Т-аллели, что приводит к усилению экспрессии CD14 и повышению уровня sCD14 [5]. Эта гипотеза косвенно подтверждается работами А.С. Martin et al. (2005), которые установили, что генотип СС полиморфизма CD14 C-159T обуславливает высокую вос-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА CD14 C-159T, TNF α G-308A И FCGR2A HIS166ARG У БОЛЬНЫХ И В ГРУППЕ КОНТРОЛЯ, %

Исследуемая группа	CD14 C-159T			TNF G-308A		FCGR2A His166Arg		
	CC	CT	TT	GG	GA	His/His	His/Arg	Arg/Arg
Больные	55	31	14	92	8	66	20	14
Контроль	59	27	14	92	8	-	-	-

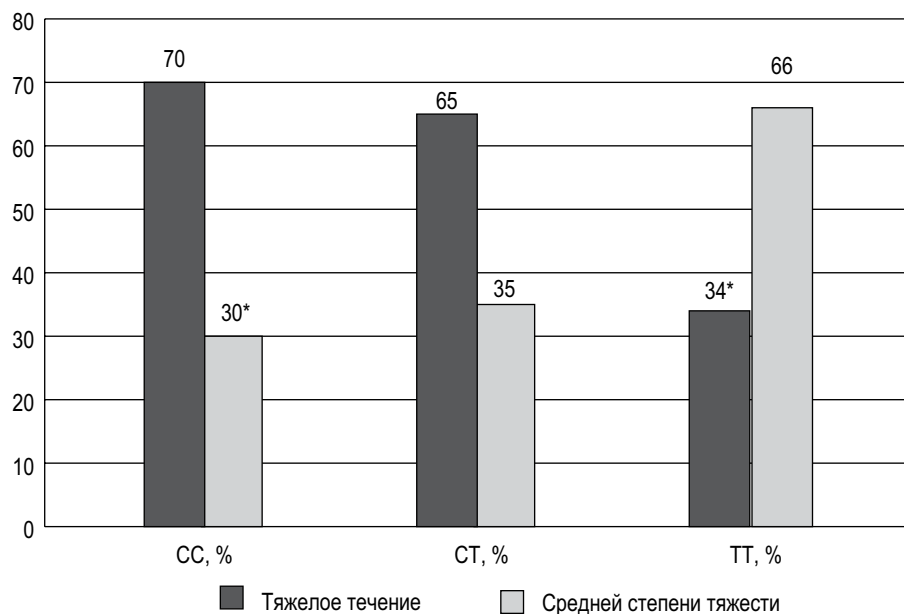


Рисунок 1. Распределение пациентов с разными генотипами полиморфизма CD14 C-159T по степени тяжести гриппа А H1N1 (χ^2 -тест)

Примечание. * – $p < 0,001$ при сравнении зависимости носительства генетического полиморфизма CD14 C-159T и степени тяжести гриппа А H1N1.

приимчивость к *Pseudomonas aeruginosa* и связан с более низким уровнем sCD14, нежели генотип ТТ. Вместе с тем некоторыми авторами высказывается противоположная точка зрения. Так, в корейской популяции выявлена ассоциация Т-аллели и высокого уровня sCD14 с туберкулезом [9]. Взаимосвязь Т-аллели полиморфизма CD14 C-260T с развитием нозокомиальной пневмонии отмечена Е.А. Байгозиной с соавт. (2010), ими высказано предположение о негативном действии высокого уровня sCD14 на тяжесть заболевания.

Взаимосвязь между генотипами TNF α G-308A и вирусными инфекциями в литературе не описана. В нашей работе ассоциация степени тяжести гриппа А H1N1 с полиморфизмом TNF α G-308A не обнаружена.

Мы не встретили в литературе сообщений о мутации FCGR2A His166Arg. Однако известны результаты изучения полиморфизма His131Arg. Аллельный вариант His131, характеризующийся наличием гистидина в 131 положении, определяет высокую чувствительность рецептора к IgG2, в то время как вариант Arg131, характеризующийся наличием аргинина в 131 положении, обеспечивает очень низкую аффинность взаимодействия IgG2 с рецептором. Гомозиготы Arg/Arg обладают пониженной фагоцитарной активностью таких бактериальных агентов, как *Streptococci* группы В, *Neisseriae*, *Staphylococci* и *Pneumococci* по сравнению с носителями гено-

типа His/His [17]. Аллель His при пневмонии, вызванной *Streptococcus pneumoniae* оказывает протективное действие [16]. У пациентов с гриппом А H1N1 связи аллельных вариантов His166Arg с тяжестью течения нами не выявлено.

Таким образом, при гриппе А H1N1 частота аллельных вариантов полиморфизма TNF G-308A и CD14 C-159T одинакова у больных и в группе контроля. С-аллель полиморфизма CD14 C-159T ассоциирована с тяжелым и осложненным течением гриппа. Гаплотип [CD14 (159CC); FCGR2A (166Arg/Arg)], выявленный в двух случаях, ассоциировался с молниеносным течением заболевания и смертью пациентов.

Список литературы

1. Байгозина Е.А., Совалкин Е.И. Влияние полиморфизма гена CD14 на течение и исход нозокомиальной пневмонии // Медицинская иммунология. — 2010. — Т. 12. — № 1-2. — С. 95-102.
2. Белявская В.А., Сметанникова Н.А., Туманов Ю.В., Максимов В.Н., Рагино Ю.В., Шабалин А.В., Воевода М.И. Распространенность серологических маркеров различных инфекций и аллельных вариантов генов подверженности инфекционным заболеваниям у населения Западной Сибири // Бюллетень СО РАМН: Прилож. к журн. — 2006. — № 13. — С. 21-23.
3. Карпова А.В., Свечникова Н.Н., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И. Генотипы и аллели G-308A TNFA у больных atopическим дерма-

титом с различным характером течения заболевания // Российский иммунологический журнал. — 2008. — Т. 2 (11), № 2-3. — С. 216.

4. Колобухина Л.В. Патогенез, дифференциальная диагностика и лечение гриппа // Русский медицинский журнал. — 2001. — Т. 9, № 16-17. — С. 135-136.

5. Baldini M., Lohman I.C., Halonen M., Erickson R.P., Holt P.G., Martinez F.D. A Polymorphism in the 5' Flanking Region of the CD14 Gene Is Associated with Circulating Soluble CD14 Levels and with Total Serum Immunoglobulin E // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. — 1999. — Vol. 20, N 5. — P. 976-983.

6. Brinkman B.M.N., Zuijdgeest D., Kaijzel E.L., Breedveld F.C. Verweij C.L. Relevance of the tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism in TNF alpha gene regulation // Journal of Inflammation. — 1996. — N 46. — P. 32.

7. D'Alfonso S., Richiardi P.M. A polymorphism variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region // Immunogenetics. — 1994. — N 39. — P. 150.

8. Hoshido K., Takeuchi O., Kawai T., Sanjo H., Ogawa T., Takeda Y., Takeda K., Akira S. Cutting edge: toll-like receptor 4 — deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product // J. Immunol. — 1999. — Vol. 162. — P. 3749-3752.

9. Kang Y.A., Lee H.W., Kim Y.W., Han S.K., Shim Y.S., Yim J.J. Association between the -159C/T CD14 gene polymorphism and tuberculosis in a Korean population // J. FEMS Immunol Med Microbiol. — 2009. — Vol. 57, N 3. — P. 229-235.

10. Leng W.J., Song Y., Yu B.J., Shi Y. Association between cluster of differentiation 14 polymorphism and susceptibility of infection // J. Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. — 2007. — N 1. — P. 17-20.

11. Martin A.C., Laing I.A., Zhang G., Brennan S., Winfield K., Sly P.D., Stick S.M., Goldblatt J., LeSouef P.N. CD14 C-159T and early infection with *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis // Respir Res. — 2005. — N 1. — P. 63.

12. Puthothu B., Forster J., Heinzmann A., Krueger M. TLR-4 and CD14 polymorphisms in respiratory syncytial virus associated disease // Dis Markers. — 2006. — N 22. — P. 303-308.

13. Sandford A., Weir T., Pare P. The genetics of asthma // Am. J. Respir Crit Care Med. — 1996. — Vol. 153. — P. 1749-1765.

14. Wilson A. G., Giovine di F. S., Blakemore A. I. F., Duff G. W. Single base change in the human tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene detectable by NcoI restriction of a PCR product // Human. Mol. Genet. — 1992. — N 1. — P. 353.

15. Yuan F.F., Boehm I., Chan P.K., Marks K., Tang J.W., Hui D.S., Sung J.J., Dyer W.B., Geczy A.F., Sullivan J.S. High prevalence of the CD14-159CC genotype in patients infected with severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus // Clin Vaccine Immunol. — 2007. — N 12. — P. 1644-1645.

16. Yuan F.F., Wong M., Pererva N., Keating J., Davis A.R., Bryant J.A., Sullivan J.S. Fc γ RIIA polymorphisms in *Streptococcus pneumoniae* infection // Immunol Cell Biol. — 2003. — Vol. 81, N 3. — P. 192-195.

17. Yee A.M., Phan H.M., Zuniga R., Salmon J.E., Musher D.M. Association between Fc γ RIIa-R131 allotype and bacteremic pneumococcal pneumonia // Clin Infect Dis. — 2000. — Vol. 30, N 1. — P. 25-28.

поступила в редакцию 31.05.2010

отправлена на доработку 16.06.2010

принята к печати 21.06.2010