

АЛЛЕЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОТТОРЖЕНИИ РЕНАЛЬНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Б. Ю. Гумилевский, О. П. Гумилевская

*Волгоградский государственный медицинский университет,
Волгоградский областной уронефрологический центр*

Изучен полиморфизм промоторной области генов цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA, IL-12, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , TGF- β) у 98 реципиентов аллогенной почки. Показано, что развитие хронического отторжения ренального трансплантата связано с особенностями строения генов ключевых цитокинов IL-1 β , IL-10, TNF- α , рецептора для IL-4.

Ключевые слова: цитокины, аллельный полиморфизм, трансплантация почки.

ALLELIC POLYMORPHISM OF CYTOKINE GENES IN CHRONIC RENAL TRANSPLANT REJECTION

B. Y. Gumilevskiy, O. P. Gumilevskaya

Polymorphism of promoter region of cytokine genes (IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA, IL-12, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , TGF- β) in 98 recipients of allogenic kidney was studied. It is shown that the development of chronic renal transplant rejection is associated with the structural features of genes of key cytokines IL-1 β , IL-10, TNF- α , receptor of IL-4.

Key words: cytokines, allelic polymorphism, kidney transplantation.

Изучение полиморфизма генов цитокинов показало, что существует связь между нарушением продукции или активности цитокинов и регуляцией транскрипции генов, что сопровождается уязвимостью к различным инфекционным, аутоиммунным, онкологическим заболеваниям, а также отторжением трансплантата [1, 4, 5]. Известно, что мутации в генах, кодирующих рецепторы для IL-12 и IFN- γ , приводят к тяжелым повторяющимся бактериальным инфекциям. Реципиенты почечного трансплантата с -511 IL-1 β CC генотипом или -1188 IL-12 CA и CC генотипом имеют высокий риск развития инфекционных осложнений в течение первого года после трансплантации. Эти пациенты требуют меньшей иммуносупрессивной терапии и более интенсивных превентивных мер в отношении инфекций [10].

В настоящее время ведутся поиски транскрипционных факторов, которые коррелируют со способностью иммунной системы реципиентов развивать толерантность к антигенам донора. Большое количество работ посвящено изучению роли генотипов цитокинов в развитии толерантности и отторжения органов после трансплантации. Среди большого разнообразия иммунорегуляторных пептидов наибольший интерес вызывает изучение генотипов TGF- β , IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-4, IL-6, IL-10.

Показано, что наличие GG генотипа IL-6 в позициях -176/-174 (высокий уровень экспрессии) связано с хорошим функционированием трансплантированной почки [8]. Генотип IL-6, определяющий низкий уро-

вень экспрессии, может быть фактором риска развития посттрансплантационной нефропатии, но не обнаружено статистически значимой разницы в распределении генотипов IL-2 между пациентами со стабильной функцией и острым отторжением трансплантированной почки [9]. Выявление -308AA генотипа TNF- α является предиктором развития эпизодов острого отторжения [2]. Существует мнение, что совпадение и несовпадение генотипов цитокинов донора и реципиента может определять развитие острого и хронического отторжения трансплантированного органа [6].

С другой стороны, ряд исследователей не находит подтверждения тому, что определенные генотипы цитокинов влияют на течение посттрансплантационного периода у реципиентов органов и тканей [3, 7].

Таким образом, несмотря на огромное количество исследований в области иммуногенетики, полученные данные неоднозначны, а иногда и противоречивы. Это связано с особенностями популяционной генетики, дизайнов исследований и используемых статистических методов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Для выяснения возможного влияния врожденных свойств иммунной системы на активность хронического отторжения было исследовано распределение аллельных вариантов генов ключевых цитокинов у реципиентов почки в зависимости от функции трансплантата.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 98 реципиентов аллогенной почки (38 женщин и 60 мужчин), проходящих лечение в Волгоградском областном уронологическом центре. Возраст больных колебался от 18 до 57 лет и составил в среднем ($36 \pm 3,5$) года.

Для изучения иммуногенетических особенностей развития хронического отторжения трансплантата реципиенты почки были разделены на две группы на основании наличия или отсутствия хронического отторжения в посттрансплантационный период и признаков дисфункции трансплантата. В качестве критерия наступления хронической трансплантационной нефропатии (ХТН) рассматривали устойчивое или прогрессирующее повышение сывороточной концентрации креатинина > 150 мкмоль/л, появление протеинурии.

Типирование промоторной области генов, определяющих уровень экспрессии генов цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA, IL-12, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , TGF- γ), осуществлялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием наборов реагентов PEL-FREEZ® Cytokine Genotyping Kit (Dyna), разработанных для определения полиморфизмов генов тринадцати цитокинов. Набор состоял из различных комбинаций лиофилизированных смесей праймеров, используемых для амплификации геномной ДНК в 96-луночном термостатируемом планшете. Результат интерпретировали по специфическим образцам при помощи рабочей таблицы.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы Microsoft Excel 2003. При сравнении групп были использованы критерий Пирсона χ^2 с поправкой Йетса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование распределения аллельных вариантов генов ключевых цитокинов у пациентов с трансплантированной почкой в зависимости от наличия признаков хронического отторжения органа позволило выявить следующие закономерности. Обнаружено, что среди всех изученных полиморфизмов генов IL-1, его рецептора и рецептора-антагониста хроническое отторжение ассоциировано с носительством гомозиготы (ТТ) в -511 позиции гена IL-1 β (20 против 0 % у пациентов без хронического отторжения, $p < 0,05$) (табл. 1). Полиморфизмы других генов, связанных с регуляцией IL-1: гена IL-1 α в -889 позиции, гена IL-1 β в +3962 позиции, гена IL-1R в pst1970 позиции и гена IL-1RA в mspa-1 11100 позиции с развитием хронического отторжения не были связаны.

Не выявилась сопряженность патологического процесса с носительством определенных аллелей генов IL-2 в -330 и +166 позициях и IL-4 в -1098, -590,

-33 позициях у пациентов с трансплантированной почкой. Однако аллельный вариант рецептора для IL-4 — IL-4Ra (G) встречался в 3 раза чаще при хроническом отторжении (30 против 11 %, $p < 0,05$), причем только в гетерозиготном варианте (табл. 2). Гомозигот среди пациентов не наблюдалось.

Таблица 1

Аллельный полиморфизм генов цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-1R, IL-1RA) у пациентов с хроническим отторжением пересаженной почки и нормальной функцией органа

Полиморфная позиция	Комбинации аллелей	Реципиенты с хроническим отторжением, %	Реципиенты без отторжения, %
IL-1 α -889 (C-T)	T	50	50
	C	95	100
	CC	50	50
	TT	5	0
IL-1 β /-511 c	CT	45	50
	T	55	45
	C	80	100
	CC	45	55
	TT	20*	0
IL-1 β /+3962 (C-T)	TC	35	45
	T	20	30
	C	95	100
	CC	80	70
	TT	5	0
IL-1R/pst1, 1970 (C-T)	TC	15	30
	C	90	78
	T	55	61
	CC	45	39
	TT	10	22
IL-1RA/mspa-1, 11100 (C-T)	CT	45	39
	T	85	83
	C	50	50
	CC	15	17
	TT	50	50
	CT	35	33

* Значимые различия между исследуемыми группами $p < 0,01$.

Исследование аллельного полиморфизма IL-6 в позициях -174 и nt565 показало наличие одинакового распределения аллелей среди пациентов исследуемых групп.

Среди трех исследованных полиморфных вариантов гена IL-10: в -819 позиции, -1188 позиции и в -592 позиции CC вариант последнего из перечисленных чаще встречался при хроническом отторжении (59 против 29 %, $p < 0,05$) (табл. 3). Роль полиморфизма генов IL-10 в развитии хронического отторжения отражена в работе Uboldi de Capei M., et al. (2004), которые показали связь GG в -1082 IL-10 с хорошей функцией трансплантированной почки [13].

Носительство определенных аллельных вариантов генов γ -IFN в +874 позиции, TGF- β 1 в codon10 и TGF- β 1 в codon25 не связано с развитием хронического отторжения. Аллельный полиморфизм гена TNF- α оказался связанным с активностью хронического отторжения пересаженной почки (табл. 4). Так, у пациен-

тов с патологическим процессом чаще встречался аллельный вариант TNF- α A в -308 позиции (40 против 17 %, $p < 0,01$), причем в гетерозиготном варианте. Гомозиготы не наблюдались ни у кого из обследованных пациентов. А аллельный вариант TNF- α (A) в -238 позиции гена цитокина не встречался у пациентов с хроническим отторжением (0 против 17 %, $p < 0,01$). Это согласуется с результатами Pawlik A. (2008), который наличие TT генотипа TNF- α в позиции -308 (низкий уровень экспрессии) связывает с хорошим функционированием трансплантированной почки.

Таблица 2

Аллельный полиморфизм генов цитокинов (IL-2, IL-4) у пациентов с хроническим отторжением пересаженной почки и нормальной функцией органа

Полиморфная позиция	Комбинации аллелей	Реципиенты с хроническим отторжением, %	Реципиенты без отторжения, %
IL-2/-330 (G-T)	G	70	78
	T	70	78
	GG	30	22
	TT	30	22
	TG	40	56
IL-2/+166 (G-T)	G	85	78
	T	40	33
	GG	60	67
	TT	15	22
	TG	25	11
IL-4/-1098 (T-G)	G	50	61
	T	80	66
	GG	20	33
	TT	50	39
	TG	30	28
IL-4/-590 (C-T)	C	85	78
	T	55	72
	CC	45	28
	TT	15	22
	TC	40	50
IL-4/-33 (T-C)	C	80	89
	T	55	50
	CC	45	50
	TT	20	11
	TC	35	39
IL-4Ra/+1902 (A-G)	G	30*	11
	A	100	100
	GG	0	0
	AA	70	89
	AG	30*	11

*Значимые различия между исследуемыми группами $p < 0,05$.

Таблица 3

Аллельный полиморфизм генов цитокинов (IL-6, IL-10, IL-12) у пациентов с хроническим отторжением пересаженной почки и нормальной функцией органа

Полиморфная позиция	Комбинации аллелей	Реципиенты с хроническим отторжением, %	Реципиенты без отторжения, %
IL-6/-174 (C-G)	G	73	75
	C	60	67
	GG	40	33
	CC	27	25
	CG	33	42

Окончание табл. 3

Полиморфная позиция	Комбинации аллелей	Реципиенты с хроническим отторжением, %	Реципиенты без отторжения, %
IL-6/nt565 (A-G)	G	70	72
	A	60	72
	GG	40	28
	AA	30	28
	AG	30	44
IL-10/-1082 (A-G)	G	70	78
	A	80	78
	GG	20	22
	AA	30	22
	GA	50	56
IL-10/-819 (C-T)	C	100	94
	T	40**	70
	CC	60*	30
	TT	0	6
	CT	40	64
IL-10/-592 (A-C)	C	100	93
	A	41**	71
	CC	59*	29
	AA	0	7
	CA	41	64
IL-12/-1188 (C-A)	C	45	33
	A	85	89
	CC	15	11
	AA	55	67
	CA	30	22

* Значимые различия между исследуемыми группами $p < 0,05$;

** значимые различия между исследуемыми группами $p < 0,01$.

Таблица 4

Аллельный полиморфизм генов цитокинов (IFN- γ , TNF- α , TGF- β 1) у пациентов с хроническим отторжением пересаженной почки и нормальной функцией органа

Полиморфная позиция	Комбинации аллелей	Реципиенты с хроническим отторжением, %	Реципиенты без отторжения, %
IFN- γ /+874 (A-T)	A	75	94
	T	65	61
	AA	35	33
	TT	20	6
	AT	45	61
TNF- α /-308 (A-G)	G	100	100
	A	40*	17
	GG	60	83
	AA	0	0
	GA	40*	17
TNF α /-238 (A-G)	G	100	100
	A	0*	17
	GG	100	83
	AA	0	0
	GA	0*	17
TGF β 1/codon10 (C-T)	C	70	61
	T	95	83
	CC	5	17
	TT	30	39
	CT	65	44
TGF β 1/codon25 (C-G)	C	30	22
	G	90	89
	CC	10	11
	GG	70	78
	CG	20	11

* Значимые различия между исследуемыми группами $p < 0,01$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, развитие хронического отторжения трансплантированной почки связано с полиморфизмом промоторной области генов ключевых цитокинов IL-1 β , IL-10, TNF- α , рецептора для IL-4, связанных с инициацией иммунного ответа, иммуносупрессорным влиянием на иммунитет и регулирующих силу воспаления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abbas Z., Moatter T., Hussainy A., Jafri W. // World J. Gastroenterol. — 2005. — Vol. 11, № 42. — P. 6656—6661.
2. Alakulppi N. S., Kyllonen L. E., Jantti V. T., et al. // Transplantation. — 2004. — Vol. 78, № 10. — P. 1422—1428.
3. Brabcova I., Petrsek J., Hribova P., et al. // Transplantation. — 2007. — Vol. 84, № 8. — P. 1037—1044.
4. Dahmer M. K., Randolph A., Vitali S., Quasney M. W. // Pediatr. Crit. Care Med. — 2005. — Vol. 6, № 3. — P. 661—673.

5. De Angelis V., Scurati S., Raschi E., et al. // J. Autoimmun. — 2009. — Vol. 32, № 1. — P. 60—63.
6. Guo Y. F., Tan J. M., Li R. Y., et al. // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. — 2005. — Vol. 85, № 44. — P. 3126—3133.
7. Klauke B., Wirth A., Zittermann A., et al. // J. Heart Lung Transplant. — 2008. — Vol. 27, № 7. — P. 741—745.
8. Muller — Steinhardt M., Hartel C., Muller B., et al. // Kidney Int. — 2002. — Vol. 62, № 5. — P. 1824—1827.
9. Pawlik A., Domanski L., Rozanski J., et al. // Transplant. Proc. — 2005. — Vol. 37, № 5. — P. 2041—2043.
10. Rodrigo E., Sanchez-Velasco P., Ruiz J. C., et al. // Transplant. Proc. — 2007. — Vol. 39, № 7. — P. 2219—2221.

Контактная информация:

Гумилевский Борис Юрьевич — д. м. н., профессор, зав. кафедрой иммунологии и аллергологии Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: gumbu@mail.ru

УДК 616.94+615.38:612.13

ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМАФЕРЕЗА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ У БОЛЬНЫХ С АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

А. Б. Толкач*, В. В. Мороз, В. Т. Долгих**

Омская областная клиническая больница, Научно-исследовательский институт общей реаниматологии РАМН, Москва**, Омская государственная медицинская академия*

Обследовано и вылечено 48 пациентов с абдоминальным сепсисом. Показан позитивный эффект плазмафереза в комплексной терапии на показатели центральной и периферической гемодинамики, а также улучшение энергетических процессов в миокарде и функциональных состояний органов и систем в целом.

Ключевые слова: плазмаферез, центральная гемодинамика, абдоминальный сепсис.

PLASMAPHERESIS EFFECT ON VALUES OF CENTRAL HAEMODYNAMICS IN PATIENTS WITH ABDOMINAL SEPSIS

A. B. Tolkach, V. V. Moroz, V. T. Dolgikh

Authors have examined and treated 48 patients with abdominal sepsis. It was shown that including plasmapheresis in the complex therapy scheme had a positive effect on the parameters of central and peripheral hemodynamics and also improved energetic processes in the myocardium and functional condition of organs and systems in general.

Key words: plasmapheresis, central hemodynamics, abdominal sepsis.

В основе патогенеза функционально-метаболических нарушений при абдоминальном сепсисе лежит сосудистая дисфункция, приводящая к расстройству центральной и регионарной гемодинамики, микроциркуляции и ухудшению реологических свойств крови [3, 5, 8]. При этом нарушается зависимость между минутным объемом кровообращения и системным сосудистым сопротивлением, а стойкое нарушение сосудистого тонуса является одним из наиболее ярких проявлений изменения функционального состояния сердечно-сосудистой системы. Своевременное выявление гемодинамических нарушений, их целенаправ-

ленная коррекция и контроль за эффективностью проводимой терапии является одним из составляющих звеньев лечения пациентов с самыми различными заболеваниями, в том числе и с гнойно-септической патологией [7, 8]. Эндотоксемия при септическом состоянии оказывает кардиодепрессивное действие, проявляющееся в снижении сократимости миокарда, запуске механизмов, обуславливающих развитие «гибернации» и «оглушенности» миокарда [1, 4]. Кроме веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) сыворотка крови пациентов с абдоминальным сепсисом содержит олигопептиды, продукты