

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ CYP3A5, MDR1 И IL-2 У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧКИ В РАЗВИТИИ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ЦМВ-ПНЕВМОНИЙ

Н. С. Ракитина, О. П. Гумилевская, Б. Ю. Гумилевский

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом клинической лабораторной диагностики ФУВ*

Исследование основано на анализе распределения аллельных полиморфизмов генов CYP3A5, MDR1 и IL-2 у реципиентов почки, принимающих циклоспорин А с эпизодами и без эпизодов пневмоний в посттрансплантационном периоде.

Ключевые слова: посттрансплантационные пневмонии, полиморфизмы генов, реципиенты почки, циклоспорин А.

POLYMORPHISM OF CYP3A5, MDR1 AND IL-2 GENES IN KIDNEY RECIPIENTS WITH POST-TRANSPLANT CMV-PNEUMONIA

O. P. Gumilevskaja, N. S. Rakitina, B. Yu. Gumilevskii

The study aimed to determine allelic polymorphisms of CYP3A5, MDR1 and IL-2 genes in kidney recipients receiving cyclosporine A, with and without episodes of pneumonia in the post-transplant period.

Key words: posttransplantation pneumonia, polymorphism of genes, recipients of a kidney, cyclosporine A.

Все пациенты, имеющие трансплантированную аллогенную почку, нуждаются в регулярной иммуносупрессивной терапии, одним из основных препаратов которой является циклоспорин А (Цс А). Действие Цс А направлено на подавление пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов для предотвращения реакции отторжения, путем ингибирования синтеза интерлейкина-2. Негативным эффектом такой иммуносупрессии является блокирование ответа вирус-специфических цитотоксических Т-клеток, что приводит к активации пролиферации герпесвирусов, которые обычно находятся в латентном состоянии практически у каждого человека [6, 9]. Огромную роль в патогенезе таких состояний играет цитомегаловирус (ЦМВ). Он обладает иммуномодулирующим действием, может изменять уровень иммуносупрессии и запускать развитие бактериального и грибкового ко-инфицирования, приводя к тяжелым, жизнеугрожающим пневмониям [1, 4].

Таким образом, адекватная терапия ЦсА требует соблюдения определенного баланса для устойчивого подавления трансплантационного иммунитета и как можно меньшего влияния на противоинфекционную резистентность. При этом известно, что метаболизм и выведение Цс А во многом обеспечивается продуктами генов CYP3A5 и MDR1. Известно, что изменение экспрессии данных генов приводит к вариабельности фармакокинетики Цс А у реципиентов почки [8].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить вклад полиморфизмов генов MDR1, CYP3A5, IL-2 в развитие посттрансплантационных ЦМВ-пневмоний у реципиентов почки Волгоградской области, принимающих Цс А.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 115 реципиентов почки в возрасте от 23 до 65 лет [в среднем (33 ± 1,5) года], принимаю-

щих Цс А и получающих лечение в ГБУЗ «Волгоградский областной уронефрологический центр». На основании анализа данных анамнеза пациенты с ренальным трансплантатом были разделены на две группы — 1-я группа — реципиенты, перенесшие ЦМВ-пневмонию (25 человек), 2-я группа — пациенты без пневмоний (90 человек). Этиология пневмонии подтверждалась репликацией вирусной ДНК и хорошим ответом на противовирусную терапию. Всем пациентам проведен комплекс лабораторных исследований. При этом забор крови осуществляли в момент отсутствия клинических и лабораторных признаков воспаления легких.

Концентрацию Цс А в цельной крови реципиентов почки определяли методом флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа с применением наборов «TDx/TDx FLx Cyclosporine Monoclonal Whole Blood» фирмы Abbott Diagnostics (США). Содержание IL-2 в сыворотке крови всех обследуемых оценивали методом твердофазного иммуоферментного анализа при использовании тест-систем фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Полиморфные варианты генов IL-2 T-330G, CYP3A5 A6986G, MDR1 C3435T устанавливали методом ПЦР с аллель-специфичными праймерами с помощью наборов фирмы НПО «Литех» (Россия).

В контрольную группу вошли 89 условно здоровых лиц без клинико-лабораторных признаков заболеваний почек и эпизодов пневмоний.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием критериев Манна Уитни, χ^2 . Значения $p < 0,05$ были приняты как статистически достоверные.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания интерлейкина 2 в сыворотке пациентов не выявил значимых отличий между исследуемыми группами (табл. 1).

Таблица 1

Содержание IL-2 в сыворотке реципиентов ($M \pm m$)

Показатель	Пациенты без пневмоний, $n = 90$	Пациенты с пневмониями, $n = 25$	Здоровые, $n = 89$
IL-2, пг/мл	$3,69 \pm$	$3,98 \pm 0,9$	$3,04 \pm 0,2$

Анализ распределения аллелей и генотипов полиморфизма G-330T гена IL-2 показал, что у реципиентов без эпизодов пневмонии значимо реже обнаруживается генотип IL-2-330TT (23,4 % против 46,1 % в контроле; $p = 0,03$) (табл. 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что несмотря на прием Цс А и наличие полиморфных вариантов гена IL-2, уровень цитокина у реципиентов обеих

групп не отличается от значений контроля. Вероятно, механизмы регуляции цитокиновой сети позволяют скомпенсировать эти эффекты и нормализовать интерлейкиновый баланс.

Анализ распределения аллелей и генотипов генов, участвующих в метаболизме Цс А, показал, что в группе без эпизодов пневмонии достоверно чаще обнаруживались аллель С (50,0 %; $p = 0,04$) и генотип СТ (93,4 %; $p = 0,003$) полиморфизма MDR1 C3435T против здоровых людей (33,1 % и 46,1 % соответственно) (табл. 3). Гомозиготный генотип ТТ зарегистрирован у 3,3 % реципиентов без пневмонии ($p = 0,0001$) и у 11,8 % пациентов с пневмониями ($p = 0,03$), в то время как у здоровых — 43,8 %. Анализ распределения генотипов полиморфизма CYP3A5 G6986A позволил выявить достоверное повышение частоты встречаемости гомозигот по аллели 6986А среди пациентов с пневмониями (24,0 %, против группы без пневмоний 7,7 %; $p = 0,05$).

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма IL-2G-330T у пациентов с трансплантатом

Ген, полиморфизм	Аллели, генотипы	Распределение генотипов						Уровень значимости, p	
		реципиенты без пневмоний, $n = 90$		реципиенты с пневмониями, $n = 25$		здоровые, $n = 89$			
		n	%	n	%	n	%		
IL-2	T-330G	T	99	55,0	34	68,0	122	68,5	$p > 0,05$
		G	81	45,0	16	32,0	56	31,5	$p > 0,05$
		TT	21	23,4 [#]	10	40,0	41	46,1	$p = 0,03$
		TG	57	63,3	13	52,0	41	46,1	$p > 0,05$
		GG	12	13,3	2	8,0	7	7,8	$p > 0,05$

[#]Значимые различия по сравнению со здоровыми ($p < 0,05$).

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов CYP3A5 и MDR1 у реципиентов почки

Ген, полиморфизм	Аллели, генотипы	Распределение генотипов						Уровень значимости, p	
		реципиенты без пневмоний, $n = 90$		реципиенты с пневмониями, $n = 25$		здоровые, $n = 89$			
		n	%	n	%	n	%		
CYP3A5	G6986A	G	141	78,3	34	68,0	121	68,0	$p > 0,05$
		A	39	21,7	16	32,0	57	32,0	$p > 0,05$
		GG	60	66,7	15	60,0	44	49,4	$p > 0,05$
		GA	23	25,6	4	16,0	33	37,1	$p > 0,05$
		AA	7	7,7 [*]	6	24,0 [*]	12	13,5	$p = 0,05$
MDR1	C3435T	C	90	50,0 [#]	23	47,1	59	33,1	$p = 0,04$
		T	90	50,0	27	52,9	119	66,9	$p > 0,05$
		CC	3	3,3	1	5,9	9	10,1	$p > 0,05$
		CT	84	93,4 [#]	21	82,3	41	46,1	$p = 0,003$
		TT	3	3,3 ^{##}	3	11,8 [#]	39	43,8	$p = 0,0001$; $p = 0,03$

^{*}Значимые отличия между группами реципиентов ($p < 0,05$), [#]значимые различия по сравнению со здоровыми ($p < 0,05$), ^{##}значимые различия по сравнению со здоровыми ($p < 0,001$).

По данным литературы, замена G6986A в гене CYP3A5 ассоциирована с изменением фармакокинетики ЦсА и пациенты с генотипом CYP3A5G6986AA нуждаются в более высокой дозировке препарата для достижения целевого уровня [7]. Результаты нашего исследования не позволили обнаружить отличий по концентрации ЦсА между группами (табл. 4). При этом оказалось, что реципиенты без эпизодов пневмонии имели более высокое отношение «доза/вес» $[(2,97 \pm 0,2) \text{ мкг/кг/сут.}; p < 0,05]$, чем пациенты со случаями пневмонии $[(2,0 \pm 0,13) \text{ мкг/кг/сут.}]$.

Таблица 4

Концентрация ЦсА у реципиентов почки ($M \pm m$)

Показатели	Пациенты без пневмоний, $n = 90$	Пациенты с пневмониями, $n = 25$
Концентрация ЦсА, нг/мл	$141,88 \pm 5,60$	$135,12 \pm 7,73$
Отношение доза/вес, мкг/кг/сут.	$2,97 \pm 0,20^*$	$2,00 \pm 0,13^*$

*Значимые отличия между группами ($p < 0,05$).

Это может быть связано с более высоким распространением ТТ генотипа MDR1 в позиции 3435, свойственным пациентам, предрасположенным к развитию пневмоний. Так, гликопротеин Р (Р-гр), кодируемый геном MDR1, играет ключевую роль в выведении метаболитов ЦсА из клетки. Известно, что индивиды с аллелью Т полиморфизма MDR1 C3435T обладают сниженным количеством Р-гр в клеточных мембранах, что приводит к более полному всасыванию и плохому выведению препарата почками [2, 5, 8]. Это объясняет то, что пациенты достигают целевой концентрации циклоспорина А в крови, принимая меньшую дозу препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что генетические особенности регуляции

метаболизма циклоспорина А, связанные с полиморфизмом генов CYP3A5 G6986A и MDR1 C3435T, вносят значимый вклад в развитие посттрансплантационных пневмоний у реципиентов почки. Сочетание быстрого метаболизма препарата при мутации гена CYP3A5 с медленным выведением и накоплением, обусловленных мутацией гена MDR1 C3435T, приводит к накоплению промежуточных соединений препарата в ткани легкого. Это способствует более выраженному угнетению противовирусного иммунитета и, в итоге, приводит к большей подверженности инфекционно-воспалительным заболеваниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Загайнов В. Е., Романов С. В., Хазов М. В. и др. // Нефрология и диализ. — 2010. — Т. 12 (2). — С. 119—125.
2. Мусеев А. А. // Фарматека. — 2013. — № 8. — С. 15—20.
3. Петров В. И., Гумилевский Б. Ю., Гумилевская О. П. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2007. — № 4. — С. 22—25.
4. Прокопенко Е. И. // Нефрология и диализ. — 2008. — Т. 10(1). — С. 6—15.
5. Ташенова А. И. Транспортная система гликопротеина-Р и фармакокинетика лекарственных средств // Biomedicine. — 2010. — №4. — С. 24—32.
6. Busque S., Leventhal J., Brennan D. C., et al. // Am. J. Transplant. — 2009. — Vol. 9. — P. 1936—1945.
7. Eng H. S., Mohamed Z., Calne R., et al. // Kidney international. — 2006. — Vol. 69 (10). — P. 1858—1864.
8. Mendes J., Martinho A., Simoes O., et al. // Transplantation proceedings. — 2009. — Vol. 41 (3). — P. 3.
9. Tedesco D., Haragsim L. // Journal of Transplantation. — 2012. — Article ID 230386. — 7 p.

Контактная информация

Гумилевская Оксана Петровна — д. м. н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: ogum@mail.ru