

Байгозина Е.А., Долгих В.Т., Совалкин В.И.

## Полиморфизм генов семейства интерлейкина-1 как фактор патогенеза нозокомиальной пневмонии

ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 644043, Омск, ул. Ленина, 12

Несмотря на обилие исследований, посвящённых нозокомиальной пневмонии, до настоящего времени отсутствуют её чёткие диагностические критерии, а прогнозирование исхода госпитальной пневмонии базируется на отдельных клинических, инструментальных, лабораторных и других параметрах, не связанных между собой как звенья единого патогенеза. Внешние факторы, способствующие развитию данной пневмонии и определяющие её прогноз, освещены достаточно полно, и проблема кроется в том, что отсутствует комплексный клинический и патофизиологический подход к оценке исхода нозокомиальной пневмонии с учетом её иммуногенетических особенностей. Одним из аспектов изучения нозокомиальной пневмонии является оценка показателей иммунной системы, в частности, — цитокинов, имеющих как диагностическое, так и прогностическое значение. Как известно, уровень иммунной реактивности организма закреплён генетически, следовательно, определяющее значение имеет полиморфизм генов, кодирующих экспрессию цитокинов как основных участников межклеточного взаимодействия. В представленной статье установлено, что одним из факторов иммунопатогенеза нозокомиальной пневмонии является полиморфизм генов  $IL-1\beta$  (-511) C→T и  $IL-1RN^*$ . Генетическим маркером риска её развития является носительство аллеля C гена  $IL-1\beta$  (-511) C→T. Тяжесть течения и клинические особенности данной пневмонии ассоциируются с наличием в генотипе пациентов аллеля T гена  $IL-1\beta$  (-511) C→T. Реализация патогенетического действия указанного полиморфизма осуществляется за счёт гиперпродукции цитокина ИЛ-1 $\beta$ . Подверженность нозокомиальной пневмонии ассоциирована с гаплотипами  $IL-1RN^*4-IL-1\beta$  (-511) C→T генов одноимённых цитокинов, обладающих полярными биологическими эффектами.

**Ключевые слова:** нозокомиальная пневмония, полиморфизм генов цитокинов, интерлейкин-1, рецепторный антагонист интерлейкина-1.

**Для цитирования:** Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2015; 59(4): 66-72.

Baygozina E.A., Dolgih V.T., Sovalkin V.I.

## Polymorphism of genes of interleukin-1 family as factor of pathogenesis of nosokomialny pneumonia

State budget institution of higher education «Omsk state medical university» of Ministry of Health of the Russian Federation, 644043, Omsk, Lenin St., 12

Despite the abundance of research devoted to nosocomial pneumonia, so far there are no clear diagnostic criteria for it and predict the outcome of nosocomial pneumonia is based on the individual clinical, instrumental, laboratory and other parameters that are not related to each other as links in a single pathogenesis. External factors contributing to the development of the pneumonia and determine its prognosis, adequately lit, and the problem lies in the fact that no comprehensive clinical and pathophysiological approach to assessing the outcome of nosocomial pneumonia considering its immunogenetic features. One aspect of learning is nosocomial pneumonia appraisal of immune system, in particular, — cytokines that have both diagnostic and prognostic value. As is known, the level of immune reactivity of the organism is fixed genetically, therefore, determines the importance polymorphisms of genes coding for the expression of cytokines as key participants in the intercellular interactions. In the present article we found that one of the factors immunopathogenesis of nosocomial pneumonia is a gene polymorphism  $IL-1\beta$  (-511) C→T and  $IL-1RN^*$ . Genetic markers of risk of its development is the carrier of the allele C of gene  $IL-1\beta$  (-511) C→T. The severity and clinical features of the pneumonia associated with the presence of the genotype of the patients T allele of the gene  $IL-1\beta$  (-511) C→T. Implementation of the pathogenetic action of this polymorphism is carried out due to overproduction of the cytokine  $IL-1\beta$ . Exposure to nosocomial pneumonia associated with haplotypes  $IL-1RN^*4-IL-1\beta$  (-511) C→T gene of the same name cytokines having polar biological effects.

**Keywords:** nosocomial pneumonia, gene polymorphism of cytokines interleukin-1 receptor antagonist interleukin.

**For citation:** Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya. 2015; 59(4): 66-72

**For correspondence:** Baygozina E.A., e-mail: pulmonology55@mail.ru

**Для корреспонденции:** Байгозина Евгения Александровна, доктор мед. наук, доцент каф. госпитальной терапии с курсом эндокринологии; e-mail: pulmonology55@mail.ru

## Методика

Нозокомиальная пневмония является одним из наиболее часто встречающихся в стационаре инфекционных заболеваний, атрибутивная летальность от которой достигает 50—76%. К настоящему времени имеются единичные сведения о роли полиморфизма генов цитокинов в иммунопатогенезе нозокомиальной пневмонии, однако эти данные чрезвычайно варьируют и зачастую противоречат друг другу. В статье показано, что одним из факторов иммунопатогенеза нозокомиальной пневмонии является полиморфизм генов интерлейкина-1 (IL-1 $\beta$  (-511) C→T) и рецепторного антагониста интерлейкина-1 (IL-1RN\*). В ходе исследования установлено, что генетическим маркером риска развития нозокомиальной пневмонии является носительство аллеля C гена IL-1 $\beta$  (-511) C→T. Тяжесть же течения и клинические особенности данной пневмонии ассоциируются с наличием в генотипе пациентов аллеля T гена IL-1 $\beta$  (-511) C→T. Реализация патогенетического действия указанного полиморфизма осуществляется за счёт гиперпродукции цитокина ИЛ-1 $\beta$ . Подверженность нозокомиальной пневмонии ассоциирована с гаплотипами IL-1RN\*4-IL-1 $\beta$  (-511) C→T генов одноимённых цитокинов, обладающих полярными биологическими эффектами. Содержание ИЛ-1РА в периферической крови было достоверно выше у больных с аллелем ИЛ-1RN\*1, несущим 4 tandemных повтора, независимо от тяжести течения госпитальной пневмонии. Определение полиморфизма генов ИЛ-1 $\beta$  (-511) C→T и ИЛ-1RN позволяет прогнозировать риск развития нозокомиальной пневмонии и тяжесть её течения у конкретного пациента, что создаёт возможность для индивидуальной коррекции реакций иммунитета.

Одним из аспектов патогенеза нозокомиальной пневмонии (НП) являются показатели иммунной системы, в частности, цитокинов, в реализации биологических эффектов которых ключевую роль играет генетический полиморфизм [1, 2]. В зависимости от индивидуального ансамбля носительства аллельных вариантов генов цитокинов характер воспалительного ответа может значительно различаться между индивидами с разными генотипами [3]. К настоящему времени имеются единичные сведения о роли полиморфизма генов семейства интерлейкина-1 (IL-1) в иммунопатогенезе НП, однако эти данные чрезвычайно варьируют и зачастую противоречат друг другу [4], в связи с чем крайне важно установить патогенетическую значимость полиморфизма генов IL-1 $\beta$  и его рецепторного антагониста в формировании, тяжести течения и исходе данной пневмонии, что составляло цель настоящего исследования.

В исследование было включено 75 пациентов с НП. Материалом для исследования служила периферическая кровь. Исследовали полиморфизм генов IL-1 $\beta$  — замена цитозина (C) на тимин (T) в позиции -511 и рецепторного антагониста интерлейкина-1 (IL-1RN) — варибельность 86-членных tandemных повторов (VNTR) в интроне 2. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом перхлоратной экстракции с этанольным осаждением [5]. Варианты гена, несущие точечные замены нуклеотидов в промоторном регионе IL-1 $\beta$  (-511) C→T, определялись методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продуктов полимеразной цепной реакции — амплификации специфических участков генома с использованием праймеров, синтезированных в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАМН (Новосибирск). Структура праймеров и программа амплификации приведены в табл. 1. Анализ полиморфных локусов генов IL-1 $\beta$  и IL-1RN осуществлялся с помощью метода полимеразной цепной реакции в стандартных условиях на амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Москва) согласно общепринятой методике исследования [5]. Амплификация проводилась в буфере, содержащем 10 мМ Трис-HCl (pH 8,9); 50 мМ KCl; 1,7 мМ MgCl<sub>2</sub>; 0,05% Tween 20 с добавлением 0,2 мМ-раствора dNTP; 0,5 мкМ раствора праймеров; 20 нг ДНК и 1,0 ед. акт. Taq-полимеразы. Реакционная смесь в объеме 20 мкл покрывалась 40 мкл минерального масла. Для генотипирования полиморфного локуса (-511) C→T IL-1 $\beta$  использовался метод полимеразной цепной реакции с дальнейшей рестрикцией ампликонов эндонуклеазой рестрикции Aha871. При гидролизе амплификационного фрагмента гена IL-1 $\beta$  эндонуклеазой рестрикции Aha871 выявлялись фрагменты размером 520 п.н., 80 п.н. и 440 п.н. Фрагмент 520 п.н. указывал на присутствие аллеля -511T IL-1 $\beta$ . При наличии аллеля C определялись два фрагмента размером 80 п.н. и 440 п.н. Анализ рестрикционных смесей проводился с помощью электрофореза в 8%-ном полиакриламидном геле в 1xTBE буфере. Фрагменты ДНК идентифицировались в проходящем ультрафиолетовом свете после окрашивания бромистым этидием.

Исследование полиморфизма IL-1RN проводилось с помощью полимеразной цепной реакции с праймерами, фланкирующими полиморфный регион в пределах второго интрона, в котором находилось варибельное количество tandemных повторов — 86 п.н. На рисунке представлены варианты полиморфизма гена IL-1RN.

Структура олигонуклеотидных праймеров для генов IL-1 $\beta$  и IL-1RN

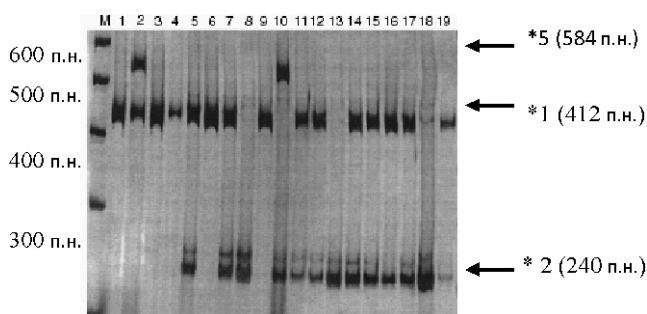
Ген	Мутация	Прямой праймер (F)	Обратный праймер (R)
IL-1 $\beta$	(-511) C $\rightarrow$ T	AAAGAGGCCAAAGGAGGGTGTTC	GGGTACAATGAAGGGCCAATAG
IL-1RN	Интрон 2 86 п.н. VNTR	CCCACTCATGGCCTTGTTC	GGTCAATGGGTACCACATC

Нормальный, наиболее часто встречающийся, вариант гена IL-1RN содержал четыре tandemных повтора; наиболее значимый из полиморфных вариантов аллель IL-1RN\*2 — два tandemных повтора; остальные варианты этого гена встречались крайне редко (менее чем у 1% популяции) и в данной работе не рассматривались.

Для краткого обозначения аллелей были приняты следующие сокращения: нормальный, не несущий мутацию аллель, обозначали цифрой 1; полиморфный — цифрой 2; ген, гомозиготный по нормальному варианту аллеля, — «1/1»; ген, гомозиготный по полиморфному варианту аллеля — «2/2»; гетерозиготный ген — «1/2» [1, 2]. Распределение генотипов по исследуемым полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди—Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Обработка результатов генетических исследований осуществлялась с использованием критерия отношения шансов (ОШ) с расчётом для него 95% доверительного интервала. В качестве непараметрического метода статистики использовался U-критерий Манна—Уитни с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0.

### Результаты и обсуждение

В исследовании распределение частот генотипов IL-1 $\beta$  (-511) C $\rightarrow$ T соответствовало равновесию Харди—Вайнберга ( $\chi^2 = 3,84$  для пациентов с НП и контрольной группой). Как следует из табл. 2, у пациентов с НП независимо от тяжести её течения



Большая П., 46 лет. Варианты полиморфизма гена IL-1RN по числу tandemных повторов в интроне 2: гомозиготы \*1/1 (полосы 1, 3, 4, 6, 9); гомозиготы \*2/2 (полосы 8, 13, 18); гетерозиготы \*1/2 (полосы 5, 7, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19); гетерозиготы \*1/5 (полоса 2); гетерозиготы \*2/5 (полоса 10); М — маркер пар оснований.

генотип C/T встречался достоверно реже по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,01$ ). По нашему мнению, патогенетическая значимость изученного полиморфного локуса -511C/T гена IL-1 $\beta$  заключалась в вариабельной продукции соответствующего цитокина, что являлось одним из определяющих факторов в клинической картине НП. В подтверждение этому установлено, что у пациентов с гомозиготным носительством аллеля С чаще наблюдалось тяжёлое течение госпитальной пневмонии по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Пониженная секреция ИЛ-1 $\beta$  при носительстве генотипа C/C рассматривалась как фактор риска персистенции нозокомиальных патогенов, что приводило к затяжному разрешению пневмонии [3]. Поскольку белковые продукты генов IL-1 $\beta$  и IL-1RN являются естественными антагонистами, то рациональным представлялось проведение анализа сочетаний генотипов с риском развития госпитальной пневмонии. Для краткого обозначения аллелей гена IL-1RN были приняты следующие сокращения: нормальный (не несущий мутацию аллель, т.е. IL-1RN\*4) обозначали цифрой «1»; полиморфный, т.е. IL-1RN\*2, — цифрой «2»; ген, гомозиготный по нормальному варианту аллеля, — «1/1»; ген, гомозиготный по полиморфному варианту, — «2/2»; гетерозиготный ген — «1/2». Для варианта (-511) C $\rightarrow$ T при наличии аллеля С гаплогруппу обозначали «A1»; при отсутствии аллеля С — «A2» (табл. 3). Было выявлено, что среди больных с НП значительно чаще встречались индивиды с гаплогруппой \*2/\*2 — A2A2 (30,7% против 8,5% в контрольной группе;  $\chi^2 = 14,23$ ;  $p < 0,001$ ). Носители данной гаплогруппы имели достаточно высокий риск развития пневмонии (ОШ = 3,98; 95% ДИ 1,98—9,78). Гаплогруппы \*1/\*1-A1A2 и \*1/\*1-A2A2 также достоверно чаще встречались среди пациентов с госпитальной пневмонией ( $\chi^2 = 5,98$ ;  $p = 0,012$ ;  $\chi^2 = 5,18$ ;  $p = 0,02$ ), поэтому в той же мере рассматривались как маркеры повышенного риска развития НП (ОШ = 0,4; 95% ДИ 0,19—0,81 и ОШ = 0,21; 95% ДИ 0,05—0,78 соответственно). Функциональная значимость полиморфизма (-511) C $\rightarrow$ T обуславливалась гиперпродукцией провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  у пациентов с НП с генотипом T/T. Содержание ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови у больных-носителей генотипа T/T составило 294,5 пкг/мл, а у пациентов с генотипами C/C и C/T — 72,3 и 86,7 пкг/мл со-



ответственно ( $p < 0,01$ ). Аллель -511Т большинством исследователей признается «высокопродуктивным» [1], а больных с инфекционной патологией, гомозиготных по данному варианту аллеля, отличает острый характер протекания воспалительного ответа [2]. В нашем исследовании у больных с генотипом Т/Т и тяжёлым течением НП по сравнению с генотипами С/С и С/Т и среднетяжёлым течением заболевания отмечались клинические и лабораторные особенности, представленные в табл. 4.

Нами было выявлено, что реализация воспалительного ответа у лиц с различным генотипом гена IL-1 $\beta$  (-511) С→Т существенно различалась по интенсивности и продолжительности пневмонии, о чём свидетельствовали статистически значимые различия по длительности пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии между больными-носителями аллелей -511С и -511Т ( $p = 0,002$ ). У больных с аллелем Т гена IL-1 $\beta$  НП возникала более остро, агрессивно, сопровождалась гиперпиретическим типом лихорадки и осложнялась развитием сепсиса и синдромом полиорганной недостаточности. В подтверждение этому выявлялись достоверные различия между обследуемыми группами пациентов по шкалам APACHE II, MODS 2 и SOFA (табл. 4). Кроме того, у больных с данной пневмонией при наличии аллеля -511Т оказывалось более существенное вторичное иммунодефицитное состояние, о чём свидетельствовала выраженность лимфоцитопении (табл. 4). Уровень эндогенной интоксикации также был выше у больных, гомозиготных по аллелю Т ( $p = 0,004$ ). Тяжесть госпитальной пневмонии у больных с генотипом Т/Т гена IL-1 $\beta$  (-511) С→Т обуславливала пролонгирование респираторной поддержки, что, по-видимому, связывалось с объемом поражения лёгочной ткани и присоединением лёгочных осложнений. Длительность искусственной вентиляции лёгких в группе больных с аллелем -511Т превышала в 2 раза аналогичный показатель в группе больных с аллелем -511С ( $p < 0,0001$ ) (табл. 4). У пациентов с аллелем -511С отмечался затяжной характер НП, которая протекала субклинически, «маскируясь» фоном основного заболевания. Очевидно, что аллель -511С выявлялся у большинства здоровых людей и относился к мутантным вариантам, определяя адекватную продукцию соответствующих белков и регуляцию функционирования системы ИЛ-1 $\beta$ . Так называемый «мутантный» аллель -511Т выявлялся в группе больных с неблагоприятным исходом нозокомиальной пневмонии почти в 3,5 раза реже, следовательно, его присутствие в генотипе гена IL-1 $\beta$  (-511) С→Т не определяло исход заболевания. Его наличие приводило лишь к повышенной продукции ИЛ-1 $\beta$ , который в высоких концентрациях ассоциировался с патофизиологическими механизмами развития, течения и исхода госпитальной пневмонии. Нами рассматривались отдельные маркёры воспаления и показатели метаболизма у больных в критическом состоянии с НП в зависимости от аллельного полиморфизма гена IL-1 $\beta$  (-511) С→Т (табл. 5). Были получены достоверные различия между показателями газового состава крови у больных-носителей аллелей -511Т и -511С (парциальное напряжение кислорода в артериальной крови составляло  $7,9 \pm 0,62$  против  $10,3 \pm 0,23$  мм рт. ст. соответственно;  $p < 0,05$ ). Содержание CO $_2$  в артериальной крови у пациентов с аллелем -511Т оказывалось выше по сравнению с лицами-носителями аллеля -511С ( $44,8 \pm 1,9$  против  $37,4 \pm 0,8$  мм рт. ст. соответственно,  $p < 0,05$ ). Длительность искусственной вентиляции лёгких у больных-носителей аллеля -511Т с кахексией в 2 раза превышало аналогичный показатель в группе больных-носителей аллеля -511С ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о декомпенсации дыхательной функции. Кроме этого, в группе пациентов-носителей аллеля -511Т гена IL-1 $\beta$  выявлялось достоверное увеличение противовоспалительного цитокина ИЛ-1РА по сравнению с группой больных-носителей аллеля -511С ( $1525,0$  пкг/мл против  $1209,0$  пкг/мл,  $p < 0,05$ ). По-видимому, избыточное количество ИЛ-1РА способствовало повышению чувствительности организма к различным инфекциям, включая возбудителей НП, что пролонгировало проведение искусственной вентиляции лёгких, приводило к истощению резервных возможностей организма и как итог, — к длительному пребыванию в отделении реанимации и интенсивной терапии. О наличии дисфункции различных органов, вплоть до развития синдрома полиорганной недостаточности, свидетельствовало снижение содержания альбумина в сыворотке крови у пациентов с аллелем -511Т (табл. 5). Интенсивность воспалительного процесса у больных с кахексией подтверждалась более высоким уровнем С-реактивного белка в периферической крови (табл. 5).

Адекватное течение воспалительного процесса в лёгких невозможно без баланса между активацией и ингибцией иммунной реактивности [6]. В связи с этим нами был изучен полиморфизм гена IL-1RN в качестве решающего фактора в продукции противовоспалительного цитокина рецепторного антагониста интерлейкина-1 (ИЛ-1РА). Наиболее значимым из мутантных вариантов данного гена является аллель IL-1RN\*2, несущий 2 повтора [6—8]. Нами не получено достоверных различий по аллельному полиморфизму гена IL-1RN между пациентами с тяжёлым, среднетяжёлым течением нозокомиальной пневмонии и контрольной группой.

Распределение частот генотипов IL-1 $\beta$  (-511) C→T у пациентов со среднетяжёлым и тяжёлым течением нозокомиальной пневмонии, абс. (доля)

Генотипы	Пациенты с тяжёлой НП (n = 43)	Пациенты со среднетяжёлой НП (n = 32)	Контрольная группа (n = 58)
C/C	20 (0,47) <sup>^</sup>	20 (0,63)	18 (0,31)
C/T	19 (0,44)*	11 (0,34) <sup>#</sup>	37 (0,64)
T/T	4 (0,09)	1 (0,03)	3 (0,05)

Примечание. \* — достоверность различий между группами больных с тяжёлой нозокомиальной пневмонией и контролем по генотипу C/T ( $\chi^2 = 8,72$ ;  $p = 0,01$ ) — по двустороннему критерию Фишера. <sup>^</sup> — достоверность различий между группами больных с тяжёлой нозокомиальной пневмонией и контролем по генотипу C/C; ( $\chi^2 = 8,65$ ;  $p = 0,003$ ) — по двустороннему критерию Фишера; <sup>#</sup> — достоверность различий между группами со среднетяжёлой нозокомиальной пневмонией и контролем по генотипу C/T; ( $\chi^2 = 7,41$ ;  $p = 0,005$ ) — по двустороннему критерию Фишера.

Анализ гаплогрупп — IL-1RN-IL-1 $\beta$  (-511) C→T у больных с нозокомиальной пневмонией и в контрольной группе

Гаплогруппа IL-1RN — IL-1 $\beta$ (-511) C→T	Пациенты с нозокомиальной пневмонией (n = 75); абс. (%)	Контрольная группа (n = 59); абс. (%)	p
*2/*2-A2A2	23 (30,7)	5 (8,5)	0,001
*1/*2-A1A2	34 (45,3)	21 (35,6)	0,24
*1/*2-A2A2	3 (4)	6 (10,2)	0,23
*1/*2-A1A1	3 (4)	2 (3,4)	1,0
*1/*1-A1A2	9 (12)	15 (25,5)	0,012
*1/*1-A2A2	2 (2,7)	6 (10,2)	0,02
*2/*2-A1A1	0	1 (1,7)	0,34
*2/*2-A1A2	1 (1,3)	1 (1,7)	1,0
*1/*1-A1A1	0	2 (3,4)	0,34

Клинические и лабораторные параметры больных с нозокомиальной пневмонией в зависимости от полиморфизма гена IL-1 $\beta$  (-511) C→T, (Me; LQ-UQ)

Критерий	Аллель C, (n = 110)	Аллель T, (n = 39)	p <sub>u</sub>
Возраст, лет	54,5 (25–72)	50 (28–72)	0,84
Койко-день в ОРИТ, сут.	4 (4–15)	16 (10–29)	0,002
Продолжительность госпитализации, сут.	30 (19–37)	33 (19–48)	0,18
Показатели по шкале APACHE, баллы	22 (17–28)	28 (22–33)	0,004
Показатели по шкале MODS, баллы	6 (3–8)	7 (4–9)	0,03
Показатели по шкале SOFA, баллы	7 (6–10)	10 (8–14)	0,01
Риск летального исхода, %	40,3 (22,5–60)	58,9 (40–75)	0,001
Показатели по шкале CPIS, баллы	8 (7–9)	9 (8–10)	0,001
Количество операций	1 (1–2,5)	2 (1–4)	0,008
Длительность ИВЛ, сут.	7,5 (2–10)	15 (8–22)	0,001
Лимфоциты, %	8,5 (5–13,5)	7 (4–11)	0,004
ЛИИ	7,6 (5,5–14,5)	10,1 (8–15,7)	0,04
АСАТ, Ед/л	36,5 (14–39,5)	51 (33–68)	0,01
АЛАТ, Ед/л	19,5 (15–38,2)	25 (16–53)	0,16

Примечание. Me — медиана; LQ — нижний квартиль; UQ — верхний квартиль; p<sub>u</sub> — достоверность различий между группами (критерий Манна—Уитни); ОРИТ — отделение реанимации и интенсивной терапии; APACHE — шкала оценки острых физиологических расстройств и хронических нарушений состояния; MODS — шкала оценки множественной органной функции; SOFA — шкала оценки последовательной органной недостаточности; CPIS — шкала оценки инфекционного процесса в лёгких; ИВЛ — искусственная вентиляция лёгких; ЛИИ — лейкоцитоксикационный индекс; АСАТ — аспарагиновая аминотрансфераза; АЛАТ — аланиновая аминотрансфераза.

Показатели метаболизма у пациентов с тяжёлой нозокомиальной пневмонией, находившихся в отделении реанимации и интенсивной терапии, в зависимости от аллельного полиморфизма гена IL-1 $\beta$  (-511) C $\rightarrow$ T

Характеристика	Аллель T, (n = 39)	Аллель C, (n = 110)
Оценка функции легких (M $\pm$ SD)		
PaO <sub>2</sub> , (кПа)	7,9 $\pm$ 0,62*	10,3 $\pm$ 0,23*
PaCO <sub>2</sub> , (кПа)	5,8 $\pm$ 0,85	5,3 $\pm$ 0,64
PaO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	66,7 $\pm$ 9,8	69,8 $\pm$ 8,7
PaCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	44,8 $\pm$ 1,9*	37,4 $\pm$ 0,8*
Длительность ИВЛ, сут.	15 $\pm$ 1,3*	7,5 $\pm$ 0,8*
Медиаторы воспаления (Me; LQ-UQ)		
ФНО- $\alpha$ в сыворот., пкг/мл	8,3 (5,4–11,1)	7,9 (4,8–10,5)
ИЛ-1 $\beta$ в сыворот., пкг/мл	57,6 (30,7–98,0)	44,1 (29,8–91,8)
ИЛ-1РА в сывор., пкг/мл	1525 (774–2416)*	1210 (656–1896)*
СРБ в сыворотке, мг/л	12,2 (6,5–72,6)*	3,1 (0,4–65,7)*
Фибриноген в сыворот., г/л	5,2 (3,5–6,7)	4,7 (3,2–6,2)
Альбумин в сыворотке, г/л	41,4 $\pm$ 1,9*	48,1 $\pm$ 1,2*

Примечание. Me — медиана; LQ — нижний квартиль; UQ — верхний квартиль; \* — достоверность между обследуемыми группами ( $p < 0,05$ ) — критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферони; ФНО- $\alpha$  — фактор некроза опухоли альфа; СРБ — С-реактивный белок.

В подтверждение наших результатов в исследовании F. Amalich и соавт. также не выявлено достоверных различий по аллельному полиморфизму гена IL-1RN у больных с пневмонией и контрольной группой [9]. Несмотря на это, интерес к данному полиморфному локусу был связан с тем фактом, что индивидуумы-гомозиготы по аллелю IL-RN\*2 намного чаще подвергаются различным инфекционно-воспалительным заболеваниям, что связано со способностью ИЛ-1РА ингибировать действия ИЛ-1 на лимфоциты и фибробласты путем блокирования связывания данного цитокина с клеточными рецепторами, что делает воспалительный ответ более продолжительным [1]. В дополнении к этому P.P. Patwari и соавт. доказали, что с наличием аллеля IL-1RN\*2 ассоциируется тяжёлое течение внебольничной пневмонии [10]. Спорным остается вопрос о способности гена IL-1RN количественно влиять на продукцию одноименного цитокина [11, 12]. Согласно данным собственного исследования, содержание ИЛ-1РА в периферической крови у больных с аллелем IL-1RN\*1 было достоверно выше (1944 пкг/мл) по сравнению с группой пациентов, несущих в генотипе аллель IL-1RN\*2 (1296 пкг/мл) ( $p < 0,01$ ). Мы объясняли это двумя возможными причинами. Во-первых, в условиях НП и синдрома системного воспалительного ответа закономерно угнетение функции периферических мононуклеарных клеток к цитокинопродукции ИЛ-1РА независимо от полиморфизма его гена. Во-вторых, у больных с данной пневмонией выявлялось достоверное повышение ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови при носительстве

аллеля IL-1RN\*2, что объясняло острую фазу течения воспалительного процесса. В этом случае гиперпродукция ИЛ-1РА в сыворотке крови оказывала негативное влияние на течение данного заболевания, вызвав состояние иммуносупрессии. Подобные данные получены S. Witkin и соавт. [13, 14]. По нашим данным, аллель IL-1RN\*2 в 2 раза чаще встречался у пациентов с благоприятным исходом НП по сравнению с группой умерших больных (29% против 13% соответственно;  $p < 0,05$ ). Поскольку ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-1РА — естественные антагонисты, определено содержание ИЛ-1 $\beta$  в подгруппах пациентов с НП, являющихся носителями аллелей IL-1RN\*1 и IL-1RN\*2. Было выявлено, что содержание ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови в 3,3 раза превышало концентрацию последнего в подгруппе пациентов-носителей аллеля IL-1RN\*2, по сравнению с подгруппой лиц, несущих аллель IL-1RN\*1 (207,4 пкг/мл против 63,1 пкг/мл соответственно;  $p < 0,001$ ). Это позволило нам правильно интерпретировать более низкие концентрации ИЛ-1РА в сыворотке крови у больных с аллелем IL-1RN\*2: все пациенты находились в острой фазе воспаления, в связи с чем у них зафиксировалось повышение концентрации ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови. Таким образом, «сработал» принцип обратной связи: носительство IL-1RN\*2 было ответственно за повышенный уровень циркулирующего ИЛ-1РА. В свою очередь, увеличенная активация экспрессии и продукции ИЛ-1 $\beta$  являлась следствием сверхвыработки ИЛ-1РА. Более того, избыточная продукция секреторного ИЛ-1 $\beta$  у пациентов с аллелем IL-1RN\*1 влияла на характер и ис-

ход НП, что связано с эндотоксин-индуцированной летальностью [4]. Нами отмечались достоверные различия между содержанием секреторного ИЛ-1РА в плазме крови у пациентов с вентилятор-ассоциированной пневмонией — 1004,2 пкг/мл против 1605,6 пкг/мл у больных без респираторной поддержки ( $p < 0,01$ ).

### Выводы

Таким образом, дисбаланс между цитокинами ИЛ-1РА и ИЛ-1 $\beta$ , связанный с преобладанием полярных генотипов, является фактором патогенеза нозокомиальной пневмонии. Генетическим маркером риска её развития является носительство аллеля С гена ИЛ-1 $\beta$  (-511) С→Т. Тяжесть течения и клинические особенности данной пневмонии ассоциируются с наличием в генотипе пациентов аллеля Т гена ИЛ-1 $\beta$  (-511) С→Т. Реализация патогенетического действия указанного полиморфизма осуществляется за счёт гиперпродукции цитокина ИЛ-1 $\beta$ . Подверженность нозокомиальной пневмонии ассоциирована с гаплотипами ИЛ-1RN\*4-ИЛ-1 $\beta$  (-511) С→Т генов одноимённых цитокинов, обладающих полярными биологическими эффектами.

Определение генетических маркеров ИЛ-1RN\* и ИЛ-1 $\beta$  (-511) С→Т необходимо для понимания патогенеза нозокомиальной пневмонии и индивидуального прогнозирования риска её развития и характера течения инфекционного процесса в лёгких. Полученные в ходе исследования результаты обеспечивают наиболее эффективные методы диагностики и прогнозирования исхода нозокомиальной пневмонии, направленные на снижение риска летальности пациентов терапевтического и хирургического профиля.

### References

1. Gromova A.Yu. Polymorphism of genes IL-1 family of man. *Tsitokiny i vospalenie*. 2005; 4 (2): 3-12. (in Russian)
2. Gromova A.Yu., Timchuk L.E., Yanov Yu.K. i dr. Association of gene polymorphism of interleukin-1, with an incidence of chronic purulent rhinosinusitis and dysregulated

inflammatory response. *Rossiyskaya otolaringologiya*. 2005; 15 (2): 2-12. (in Russian)

3. Chernova O.A., Baranova N.B., Akberova N.I. i dr. The distribution of allele and genotype frequencies of polymorphic loci IL-1B, IL-1RN and IL-10 in humans by the persistence of mycoplasmas (*Mycoplasma hominis*). *Tsitokiny i vospalenie*. 2008; 4(4) : 11-4 ( in Russian)

4. Waterer G.W., Wundek R.G. Science review: genetic variability in the systemic inflammatory response. *Critical Care*. 2003; 7 (4): 308-14.

5. Konenkov V.I. The structural basis and functional significance of allelic polymorphism of cytokine genes and their receptors person. *Meditinskaya Immunologiya*. 2003; 5 (1-2): 11-28. (in Russian)

6. Barton P.T. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism, vaginal interleukin-1 receptor antagonist concentrations, and vaginal *Ureaplasma urealyticum* colonization in pregnant women. *Infect. Immun*. 2003; 71: 271-4.

7. Bosco P. Association of IL-1RN\*2 allele and methionine synthase 2756AA genotype with dementia severity of sporadic Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2004; 75 (7): 1036-8.

8. Glas J., Torok H.P., Schneider A. et al. Allele 2 of the interleukin-1 receptor antagonist gene is associated with early gastric cancer. *J. Clin. Oncol*. 2004; 22 (23) : 4694-700.

9. Arnalich F. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis. *Clin. Exp. Immunol*. 2002; 127: 331-6.

10. Patwari P.P., O'Cain P., Goodman D.M. et al. Interleukin-1 receptor antagonist intron 2 variable number of tandem repeats polymorphism and respiratory failure in children with community-acquired pneumonia. *Pediatric Critical Care Medicine*. 2008; 9 (6): 553-9.

11. Rafiq S., Stevens K., Hurst A.J. et al. Common genetic variation in the gene encoding interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA) is associated with altered circulating IL-1RA levels. *Genes and Immunity*. 2007; 8: 344-51.

12. Walley A.J., Aucan C., Kwiatkowski D., Hill A.V.S. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms and susceptibility to clinical malaria in a Gambian case-control study. *European Journal of Human Genetics*. 2004; 12: 132-8.

13. Witkin S., Linhares L.M., Gerber S. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and circulating levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA in Brazilian women. *Journal of Virology*. 2001; 75 (13): 6242-4.

14. Witkin S., Gerber S., Ledger W.J. Influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease. *Clin. Infect. Dis*. 2002; 34 (2): 204-9.

Поступила 28.10.13

### Сведения об авторах:

Долгих Владимир Терентьевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии с курсом клинической патофизиологии

Совалкин Валерий Иванович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. госпитальной терапии с курсом эндокринологии