

**ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ЦИРРОЗА
ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ
НСV-ИНФЕКЦИЕЙ**

Романов А.О., Беляева Т.В., Эсауленко Е.В.

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет

им. акад. И.П. Павлова

197022 СПб, ул. Л.Толстого, 6/8

Резюме. Альтерация гепатоцитов обусловленная персистенцией вируса гепатита С приводит к развитию цирроза печени. Рибонуклеаза L и маннозосвязывающий лектин являются важными элементами врожденного иммунитета. Функциональные полиморфизмы генов этих генов могут быть связаны с различиями в прогрессии цирроза при хронической HCV-инфекции. Встречаемость полиморфизмов генов RNASEL, MBL определяли методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов продуктов полимеразной цепной реакции. Целью данной работы было оценить влияние полиморфизмов генов +1385G/A RNASEL и +230G/A MBL на исход хронической HCV-инфекции. У больных хроническим гепатитом С комбинированный вариантный генотип полиморфизмов генов RNASEL, MBL увеличивает риск развития цирроза.

Ключевые слова: гепатит С; цирроз; рибонуклеаза L; маннозосвязывающий лектин; полиморфизм.

**COMPONENTS OF THE INNATE IMMUNE RESPONSE IN DEVELOPMENT
OF CIRRHOSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C**

A.O. Romanov, T.V. Belyaeva, E.V. Esaulenko

St. Petersburg State Medical University. Acad. I.P. Pavlova

Abstract. Chronic injury in response to persistent HCV replication leads to liver fibrosis. Ribonuclease L and mannose-binding lectin are critical components of the innate immune response to viruses. Functional polymorphisms in these genes could be associated with variability in the progression of HCV-related cirrhosis. The distribution of +1385G/A RNASEL and +230G/A MBL gene polymorphisms were analyzed by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphisms to evaluate whether these polymorphisms are associated with the natural outcome of hepatitis C virus infection. For patients with chronic hepatitis C,

combinations of the variant genotypes of +1385G/A RNASEL and +230G/A MBL could increase the risk of developing cirrhosis.

Keywords: hepatitis C; cirrhosis; ribonuclease L; mannose-binding lectin; polymorphism.

ВВЕДЕНИЕ

Хронический гепатит С (ХГС) представляет глобальную проблему современного здравоохранения, актуальность которой возрастает. Невысокая информативность биохимических показателей, сложность объективной оценки морфологических изменений существенно ограничивает использование этих данных в качестве маркеров для раннего прогнозирования с целью выделить группу лиц остро нуждающихся в специфическом лечении для предотвращения инвалидизации и летальности

В патогенезе ХГС большое значение имеют внутриклеточные противовирусные механизмы, препятствующие репликации чужеродного генома [7] и встречающиеся не только у иммунокомпетентных, но и у большинства других типов клеток. Терминальные участки РНК вируса гепатита С содержат двуспиральные структуры, активирующие рибонуклеазу L, которая расщепляет вирусную РНК в области UA и UU нуклеотидов [3]. Рибонуклеаза L локализуется в цитоплазме и ядре. Ген, кодирующий синтез рибонуклеазы L (RNASEL), находится на хромосоме 1q25. Полиморфизм R462Q (1385G/A) связан со снижением активности фермента в три раза [2], замена аргинина глутамином, обусловленная этим полиморфизмом, приводит к снижению способности образования активной димерной формы рибонуклеазы L из неактивной мономерной [12].

Маннозосвязывающий лектин (MBL) является важным элементом врожденного иммунитета, взаимодействуя с N-ацетилглюкозамином и маннозой, содержащимися на поверхности бактериальных клеток и вирусных частиц и практически отсутствующих на мембранах клеток млекопитающих, активирует классический путь комплемента без участия антител и C1 фактора, вызывая осмозис или фагоцитоз микроорганизмов [5]. Ген MBL расположен на хромосоме 10q21, наличие полиморфизма G/A в позиции +230 первого экзона гена MBL, обуславливает замену глицина на аспарагин, вследствие чего синтезируется функционально неполноценный белок [6]. Аллель A полиморфизма +230G/A гена MBL встречается среди населения Европейских стран с частотой 11 – 17% [4, 8] и связан с повышенным риском развития тяжелых форм бактериальных и вирусных инфекций у детей и взрослых [9, 11].

Таким образом, полиморфизмы генов иммунного ответа могут оказывать значительное влияние на скорость прогрессирования и исход инфекции.

Целью исследования была роль полиморфизмов генов RNASEL, MBL в развитии цирротической стадии хронического гепатита С.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения роли соответствующих наследственных факторов использовали получивший широкое распространение ассоциативный анализ, предполагающий сравнение частот генотипов в зависимости от присутствия или отсутствия фенотипа заболевания. Полиморфизмы генов +1385G/A RNASEL, +230G/A MBL, идентифицировали методом ПЦР-ПДРФ в соответствии с опубликованными методиками [1, 10] у 76 больных с цирротической стадией ХГС, 88 больных ХГС без клинико-биохимических и инструментальных признаков цирроза печени. Контрольную группу составили 122 здоровых донора.

Наблюдаемое распределение частот генотипов проверяли на отклонение от равновесия Харди – Вайнберга с использованием критерия χ^2 . Достоверность различий частот генотипов и аллелей в сравниваемых группах определяли с помощью χ^2 с учетом поправки Йетса. Статистически значимым считали различие при величине $p < 0,05$. Для оценки зависимости вариации результирующего признака от вариации признака-фактора использовали показатель отношения шансов (odds ratio, OR). Значение $OR > 1$ рассматривали как положительную связь с клиническим синдромом (“фактор предрасположенности”), $OR < 1$ как отрицательную связь (“фактор устойчивости”). Если $OR = 1$, считали, что связь с заболеванием отсутствует.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распределения генотипов в контрольной группе и у больных (Табл.1) соответствовали ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга.

Компаундные гомозиготы по нормальным аллелям с генотипом +1385 GG RNASEL/+230 GG MBL в группе больных с цирротической стадией ХГС встречались в 16% случаев (12 больных), в группе больных ХГС без отечно-асцитического синдрома в 32% случаев (28 больных), в два раза чаще по сравнению с первой группой и в 1,5 раза чаще при сопоставлении с контрольной группой, где этот генотип встречался в 24%

случаев (30 доноров).

Генотип +1385 GA(AA)RNASEL/+230GA(AA) MBL, который объединяет гетерозигот и гомозигот одновременно по вариантному аллелю А (Gln) гена RNASEL и мутантному аллелю А (Asp) гена MBL идентифицирован у 16 из 76 больных первой группы (21%), у 12 (14%) из 88 больных второй группы и у 19 лиц (16%) контрольной группы. Наследование этого генотипа увеличивает риск развития цирроза печени у инфицированных вирусом гепатита С в 3 раза по сравнению с компаундными гомозиготами по нормальным аллелям ($\chi^2 = 3,952$; $df = 1$; $p = 0,047$; $OR = 3,111$; 95% CI 1,134 – 8,531).

Таблица 1.

Анализ полиморфизмов генов полиморфизмов генов RNASEL, MBL
у больных ХГС и в контрольной группе.

Полиморфизм	Генотип, аллели	Группа 1 больные с цирротической стадией ХГС N = 76 (%)	Группа 2 больные ХГС N = 88 (%)	Контрольная группа N = 122 (%)
+1385 A/G RNASEL	GG (Arg/Arg)	22 (29%)	38 (43%)	46 (38%)
	GA (Arg/Gln)	45 (59%)	44 (50%)	64 (52%)
	AA (Gln/Gln)	9 (12%)	6 (7%)	12 (10%)
	G (Arg)	89 (59%)	120 (68%)	156 (64%)
	A (Gln)	63 (41 %)	56 (32%)	88 (36%)
+230 A/G MBL	GG (Gly/Gly)	51 (67%)	66 (75%)	87 (71%)
	GA (Gly/Asp)	20 (26%)	18 (20%)	30 (25%)
	AA (Asp/Asp)	5 (7%)	4 (5%)	5 (4%)
	G (Gly)	122 (80%)	150 (85%)	204 (84%)
	A(Asp)	30 (20%)	26 (15%)	40 (16%)

Присутствие в генотипе вариантных аллелей А (Gln) гена RNASEL и А (Asp) гена MBL, связанных с нарушением функции белков, участвующих во внеклеточной и внутриклеточной фазах противовирусного ответа, может способствовать персистенции вируса, тем самым усиливая интенсивность реакций повреждения и репарации, повышает вероятность развития цирроза печени.

ВЫВОДЫ

Генотипирование по полиморфным маркерам +1385G/A RNASEL и +230G/A MBL может использоваться для оценки степени риска развития цирроза печени у больных ХГС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Романов А.О., Беляева Т.В., Эсауленко Е.В. Способ идентификации полиморфизма +1385G/A гена RNASEL. Патент РФ № 2320992, (2008.03.27).
2. Casey G., Neville P.J., Plummer S.J. et al. RNASEL Arg462Gln variant is implicated in up to 13% of prostate cancer cases // Nat. Genet. – 2002. – Vol. 32, № 4. – P. 581 – 583.
3. Han J.Q., Wroblewski G., Xu Z. et al. Sensitivity of hepatitis C virus RNA to the antiviral enzyme ribonuclease L is determined by a subset of efficient cleavage sites // J. Interferon Cytokine Res. – 2004. – Vol. 24, № 11. – P. 664 – 676.
4. Madsen H.O., Garred P., Thiel S., Kurtzhals J.A., Lamm L.U., Ryder L.P., Svejgaard A. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein // J. Immunol. – 1995. – Vol. 115, № 6. – P. 3013 – 3020.
5. Matsushita M. The lectin pathway of the complement system // Microbiol. Immunol. – 1996. – Vol. 40, № 12. – P. 887 – 893.
6. Matsushita M., Ezekowitz R.A., Fujita T. The Gly-54-->Asp allelic form of human mannose-binding protein (MBP) fails to bind MBP-associated serine protease // Biochem. J. 1995. – Vol. 311, № 3. – P. 1021 – 1030.
7. Samuel C.E. Antiviral actions of interferons // Clin. Microbiol. Rev. – 2001. – Vol. 14, № 4. – P. 778 – 809.
8. Steffensen R., Thiel S., Varming K., Jersild C., Jensenius J.C. Detection of structural gene mutations and promoter polymorphisms in the mannan-binding lectin (MBL) gene by polymerase chain reaction with sequence-specific primers // J. Immunol. Methods. – 2000. – Vol. 241, № 1 – 2. – P. 33 – 42.
9. Sumiya M., Levin M., Turner M.V. Association of mutations in mannose binding protein gene with childhood infection in consecutive hospital series // BMJ. – 1997. – Vol. 314, № 7089. – P. 1229 – 1232.
10. Sumiya M., Super M., Tabona T., Levinsky R.J., Arai T., Turner M.W. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children // Lancet. – 1991. – Vol. 337, № 8757. – P. 1569 – 1570.
11. Summerfield J.A., Ryder S., Sumiya M., Thursz M., Gorchein A., Monteil M.A. Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults // Lancet. – 1995. – Vol. 345, № 8954. – P. 886 – 889.

12. Xiang Y., Wang Z., Murakami J. et al. Effects of RNase L mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2',5'-oligoadenylates // Immunol. Methods. – 2003. – Vol. 63, № 20. – P. 6795 – 6801.