ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И ЧАСТОТА РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ПНЕВМОНИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Т. В. Смелая[1], Л. Е. Сальникова[2], В. В. Мороз[1], А. М. Голубев[1], Ю. В. Заржецкий[1], А. В. Рубанович[2]

[1] НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Москва
[2] Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва

Genetic Polymorphism and the Rate of Development of Complications in Pneumonia of Varying Genesis

T. V. Smelaya[1], L. Ye. Salnikova[2], V. V. Moroz[1], A. M. Golubev[1], Yu. V. Zarzhetsky[1], A. V. Rubanovich[2]

[1] V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow
[2] N. I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow

Цель работы **— исследование генетического полиморфизма генов первой и второй фаз детоксикации ксенобиотиков (*GSTM1, GSTP1, GSTT1, CYP1A1*), а также *ACE, CCR5, MTHFR*, генов цитокинов *IL-6* и *TNF-α* для выявления наследственной предрасположенности к возникновению пневмонии различного генеза и осложнений при ней. *Материал и методы*. Изучены частоты встречаемости аллельных вариантов семи генов в группах больных (524) пневмонией и здоровых доноров (178 — группа контроля). *Результаты*. Выявлены генотипы, ассоциированные с предрасположенностью к возникновению внебольничной и нозокомиальной пневмонии: *GSTM1 I/*, CYP1A1 606T/T, ACE D/D*, а также с повышенным риском развития осложненного течения внебольничной пневмонии (ВП). Зарегистрированы эффекты по алелльным вариантам гена *ACE* при развитии таких осложнений, как острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), полиорганная недостаточность (ПОН) и сепсис: гомозиготы по инсерции *ACE I/I*, сопряженные с выживаемостью, альтернативный генотип *ACE D/D* — с летальностью. *Заключение*. В результате проведенного исследования выявлена взаимосвязь полиморфизма генов детоксикации с предрасположенностью к развитию ВП и НП, возникновению осложнений при ВП. *Ключевые слова:* гены детоксикации ксенобиотиков, ключевого гена ренин-ангиотензиновой системы *ACE*, гена хемокинового рецептора 5 *CCR5*, пневмония, ОРДС, сепсис, ПОН.**

Objective: **to study the genetic polymorphism of the genes of phase I and II xenobiotic detoxification (GSTM1, GSTP1, GSTT1, CYP1A1), as well as ACE, CCR5, MTHFR, and those of the cytokines IL-6 and TNF-α to reveal hereditary predisposition to pneumonia of varying genesis and its complications. *Materials and methods*. The frequency of the allele variants of 7 genes was studied in the groups of patients with pneumonia (*n*=524) and healthy donors (a control group (*n*=178). *Results*. There were are genotypes associated with predisposition to community-acquired and nosocomial pneumonia (CAP and NP): GSTM I*, CYP1A1 606T/T, ACE D/D and those associated with a higher risk for complicated CAP. There were effects of the allelic variants of the ACE gene in developing complications, such as acute respiratory distress syndrome, multiple organ dysfunction, and sepsis: ACEI/I insertion homozygotes linked to survival and the alternative ACE D/D genotype to mortality. *Conclusion*: The study revealed an association of detoxification gene polymorphism with predisposition to CAP and NP and with the development of complications in CAP. *Key words:* xenobiotic detoxification genes, key ACE renin-angiotensin system gene, chemokine receptor 5 (CCR5) gene, pneumonia, acute respiratory distress syndrome, sepsis, multiple organ dysfunction.**

Развитие молекулярно-генетических методов и технологий в последние десятилетия позволило картировать гены многочисленных наследственных болезней и идентифицировать мутации генов, появление которых приводит к нарушению функционирования кодируемого геном белка и развитию заболевания. Эти знания сейчас с успехом применяют на практике с целью ДНК-диагностики наследственных болезней, а в последнее время и с целью определения относительного риска подверженности индивидов многофакторным заболеваниям [1]. В настоящее время цитогенетические методы исследования для диагностики болезней органов дыхания направлены, в первую очередь, на выявление злокачественных новообразований, что продиктовано наличием высокого уровня хромосомного дисбаланса, сопровождающего развитие опухолевого процесса [2, 3]. В то же время высокая частота инфекционных заболеваний органов дыхания, не снижающаяся летальность при них, являются веским аргументом для проведения генетических исследований у больных пневмонией, которая относится к многофакторным заболеваниям.

Цель исследования — изучить роль функционального полиморфизма генов первой и второй фаз детоксикации ксенобиотиков, а также генов *ACE, CCR5,*

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Смелая Тамара Валерьевна
E-mail: tamara_smelaya@mail.ru

MTHFR, IL-6 и *TNF-α* в предрасположенности к возникновению пневмонии различного генеза и развитию осложнений.

Материал и методы

Проведено исследование генетического полиморфизма у 524-х больных, находившихся на лечении в ГВКГ МВД РФ и ГВКГ им. Н. Н. Бурденко. Были выделены следующие группы:

группа I — 277 больных внебольничной пневмонией (ВП), среди которых зарегистрированы 193 случая осложненного течения пневмонии (группа ВП-осл);

группу II составили 247 пациентов с различными заболеваниями и травмами («перитонит», «тяжелая сочетанная травма» и др.). В зависимости от особенностей течения основного заболевания были выделены две подгруппы:

IIA — 158 больных и пострадавших, у которых развилась нозокомиальная пневмония (НП);

IIB — 89 пациентов с аналогичными заболеваниями, что и во II A подгруппе, но у которых не развилась НП.

Группу контроля составили 178 здоровых доноров, ранее не болевших пневмонией.

От всех больных (или родственников) и здоровых лиц было получено информированное согласие на участие в генетическом исследовании. Характеристика больных с установленными генотипами представлена в табл. 1.

В каждой группе были выделены подгруппы в зависимости от исхода основного заболевания: «выжившие», «умершие».

Диагноз пневмонии устанавливали на основании бактериологических, клинико-рентгенологических и лабораторных данных. Тяжесть пневмонии оценивали с помощью шкалы Clinical Pulmonary Infection Score (CPIS) [4]. Всем больным проводили комплексную интенсивную терапию, согласно основной нозологии и развившихся осложнений. Временной диапазон пребывания больных в стационаре, отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) указан в табл. 1.

Всем больным и здоровым донорам было проведено выделение ДНК и генотипирование методом аллель-специфической гибридизации по ранее описанной методике [5]. Исследованы гены первой и второй фазы детоксикации (*GSTM1, GSTT1, GSTP1*), три сайта гена *CYP1A1* (*CYP1A1T606G, CYP1A1T3801C* и *CYP1A1A4889G*), а также ген *MTHFR*, ключевой ген ренин-ангиотензиновой системы *ACE*, ген хемокинового рецептора 5 *CCR5*, гены цитокинов *IL-6* и *TNF-α*. Праймеры подбирали с использованием программы Primer3, находящейся в открытом доступе [6]. Амплификацию выполняли в амплификаторах Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700.

В случае делеционно-инсерционного полиморфизма (*GSTM1, GSTT1*) выявлялись два генотипа: «нулевой» — гомозигота по делеции (D/D) и «положительный», несущий функциональный аллель в гомо- или гетерозиготном состоянии (I/*), где * — произвольный аллель. Генотипирование инсерционно-делеционного полиморфизма по локусам *ACE* (делеция 287 п. о.) и *CCR5* (делеция 32 п. о.) осуществляли мультиплексной ПЦР.

Степень ассоциации генотипов с заболеваниями охарактеризована показателем OR (odd ratio — отношение рисков, мера коррелятивной связи), равного:

$$\mathbf{OR = \{P_{бол}\ (1-P_{здор})\}/\{P_{здор}\ (1-P_{бол})\},}$$

где $\mathbf{P_{бол}}$ — частота генотипа среди больных, $P_{здор}$ — частота генотипа среди здоровых.

- OR=1 — указывает на отсутствие корреляций между генотипом и заболеванием.
- OR>1 — означает повышенный риск заболевания при данном генотипе.

Для проверки статистической значимости различий частот использовался двусторонний точный критерий Фишера. В ряде случаев для оценки достоверности различий частот использовался также трендовый тест Армитажа [7]. Частоты гаплотипов и их эффектов оценивали с помощью общедоступной on-line программы SNPStats [8].

Результаты и обсуждение

1. Значение полиморфизма исследованных генов на предрасположенность к возникновению пневмонии различного генеза.

Исследование пациентов с пневмонией и группы здоровых доноров показало, что для больных с аллельными вариантами трех генов детоксикации (*CYP1A1, GSTM1, GSTP1*) и гена ангиотензин-превращающего фермента *ACE* характерна более высокая частота равития пневмонии. В ранее опубликованной работе [9] представлены результаты исследования по выявлению генотипов предрасположенности к возникновению ВП. Дальнейшее изучение полиморфизма выше указанных генов в группах больных и здоровых добровольцев на увеличенной выборке подтвердило предыдущие результаты и выявило различия по частоте встречаемости генотипов изученных локусов не только в отношении внебольничной, но и в случаях нозокомиальной пневмонии.

Таблица 1

Характеристика больных в исследованных группах

Показатель	Значения показателей в группах		
	I (ВП), *n*=277	IIA (с НП), *n*=158	IIB (без НП), *n*=89
Возраст, годы (*M*±*σ*)	25,29±8,01 (от 18 до 75)	42,43±17,23 (от 18 до 75)	43,70±17,69 (от 19 до 75)
Пол: мужчины/женщины, абс. знач./%	265 (95,67)/12 (4,3)	128 (81,01)/30 (18,99)	78 (87,64)/21 (12,36)
Продолжительность основного заболевания на момент поступления в госпиталь, сут (*M*±*σ*)	8,19±5,69 (от 3 до 21)	10,14±8,04 (от 1 до 65)	4,7±4,41 (от 1 до 21)
Тяжесть пневмонии, шкала CPIS, баллы (*M*±*σ*)	8,79±1,02 (от 6 до 12)	8,38±1,62 (от 6 до 10)	—
Тяжесть состояния при поступлении, шкала APACHE II, баллы (*M*±*σ*)	11,2±1,1 (от 8 до 21)	14,2±3,1 (от 11 до 23)	14,81±4,93 (от 11 до 23)
Длительность госпитализации, сутки (*M*±*σ*)	28,70±3,05 (от 24 до128)	72,43±45,50 (от 6 до 323)	41,75±15,14 (от 26 до 235)
Длительность ОРИТ, сутки (*M*±*σ*)	3,70±1,01 (от 1 до 51)	24,29±17,58 (от 3 до 318)	5,10±2,64 (от 2 до 19)
Летальность, абс. знач./%	9 (3,25)	67 (42,41)	2 (2,25)

Таблица 2

Гены, ассоциированные с предрасположенностью к развитию пневмонии

Локусы	Генотипы	Значения показателей в группах, абс. знач. (%)			
		Контроль, *n*=178	I (ВП), *n*=277	IIA (с НП), *n*=158	IIB (без НП), *n*=89
CYP1A1 606	**T/T**	76 (42,72)	134 (55,1)#	0 (0,00)	0 (0,00)
	T/G	74 (41,6)	81 (33,3)	143 (91,08)	81 (90,00)
	G/G	28(15,7)	28 (11,5)	14 (8,92)	9 (10,00)
ACE	**D/D**	40 (22,5)	82 (33,7)##	0 (0,00)	0 (0,00)
	D/I	89 (50,0)	103 (42,4)	72 (45,86)	42 (47,19)
	I/I	49 (27,5)	58 (23,9)	85 (54,14)	47 (52,81)
GSTM1	D/D	92 (51,7)	94 (38,7)	88 (55,70)	54 (60,67)
	I/*	86 (48,3)	149 (61,3)#	17 (10,76)	3 (3,37)
GSTP1	A/A	78 (44,1)	45 (48,4)	6 (9,68)	3 (7,89)
	A/G	87 (49,1)	45 (48,4)	41 (25,95)	22 (25,00)
	G/G	12 (6,8)	3 (3,2)	78 (49,37)#	39 (44,32)

Примечание. Полужирным отмечены генотипы, ассоциированные с внебольничной пневмонией; подчеркнуты — генотипы, ассоциированные с нозокомиальной пневмонией. # — $p \leqslant 0{,}05$ — относительно контрольной группы; ## — $p \leqslant 0{,}01$ — контрольной группы.

Таблица 3

Частота встречаемости генотипов предрасположенности к ВП и их комбинаций в группах контроля и больных внебольничной пневмонией

Генотипы	Значения показателей в группам, абс. знач. (%)		
	Контроль, не заболели ВП, *n*=134	ВП, *n*=277	Контроль, заболели ВП, *n*=44
CYP1A1 606 T/T	46 (34,33)	134 (55,1)#	30 (68,18)#
ACE D/D	28(20,90)	82 (32,7)#	11 (25,0)
GSTM1 I/*	61 (45,52)	149 (61,3)#	24 (54,55)#
GSTM1 I/* — *ACE* D/D	11 (8,20)	58 (20,94)#	3 (6,82)
GSTM1 I/* — *CYP1A1* 606T/T	20 (14,93)	77 (27,80)#	15 (34,09)##
ACE D/D — *CYP1A1* 606T/T	8 (5,97)	40 (14,14)##	5 (11,36)#

Примечание. *CYP* 606 — сокращенное обозначение полиморфного сайта *CYP1A1* T606G. # — $p \leqslant 0{,}05$ — относительно контрольной популяции, не заболевшей пневмонией; ## — $p \leqslant 0{,}01$ — относительно контрольной популяции, не заболевшей пневмонией.

Проведенный анализ частот однолокусных генотипов в исследованных группах показал, что повышенную предрасположенность к ВП обнаруживают гомозиготы по делеции в локусе *ACE* D/D (OR=1,97; *p*=0,002), «положительные» генотипы локуса *GSTM1* I/* (OR=1,65; *p*=0,012) и гомозиготы по аллелю 606T гена *CYP1A1* (OR=1,6; *p*=0,016) (табл. 2). Косвенным подтверждением этих наблюдений является сильное нарушение распределения Харди-Вайнберга (дефицит гетерозигот, $p<10^{-6}$) в группе больных для локуса *CYP1A1* T606G (и только для них). В контрольной популяции все изученные локусы находились в состоянии равновесия по Харди-Вайнбергу. Для двух локусов зарегистрирован эффект дозы гена: в группах больных пневмонией и здоровых доноров достоверно отличаются частоты встречаемости аллелей 606T/T и 606G/G гена *CYP1A1* (*p*=0,049, OR=1,34), а также частоты делеционных и инсерционных аллелей гена *ACE* (*p*=0,017, OR=1,39).

Во второй группе у 158-и (из 247-и) больных и пострадавших развилась нозокомиальная пневмония (НП), что составило 53,97%. Ассоциации между генотипами и предрасположенностью к возникновению НП зарегистрированы только по локусу *GSTP1* (табл. 2). Результаты значимы относительно популяционного контроля и «отрицательного» контроля (группа IIB). Достоверность отличий по частотам аллелей у пациентов с нозокомиальной пневмонией в сравнении с популяционным контролем составляет по тесту Армитажа *p*=0,03, причем имеет место аддитивный эффект (зависимость от дозы гена). По двустороннему критерию Фишера эффект наблюдается на уровне тенденции по доминантной модели (*p*= 0,05, OR=1,55). При сопоставлении частот аллельных вариантов по тесту Фишера в подгруппах IIA и IIB различия достоверны по рецессивной модели (*p*=0,05, OR=3,42).

В результате сравнительного анализа из контрольной популяции была выделена группа риска, которую составили 137 человек (76,9%), имеющих один из генотипов предрасположенности или их комбинации (табл. 3). Гомозиготы по аллелю 606T/T гена *CYP1A1* составили 75 случаев (54,74%); гомозиготы по делеции в локусе *ACE* D/D — 35 (25,55%), «положительные» генотипы локуса *GSTM1* I/* — 84 случая (61,31%). Комбинация двух генотипов *CYP1A1* 606T/T — *GSTM* I/* выявлена у 36-и человек (26,28%), а у 7-и — зарегистрировано сочетание всех трех генотипов предрасположенности (5,11%).

В течение трехлетнего периода наблюдений в госпиталь из контрольной группы (178 доноров) с предварительным диагнозом «острая внебольничная пневмония»

Таблица 4

Частота встречаемости протективных генотипов в исследованных группах

Локус, генотип	Значения показателей в группах, абс. знач. (%)				
	Контроль, не заболели ВП, *n*=134	К-ВП, *n*=44	ВП, *n*=277	IIA, *n*=158	IIB, *n*=89
CYP1A1 606T/G	63 (47,01)	11 (25,0)##	81 (33,3)	14 (8,92)*	48 (53,93)
CYP1A1 606G/G	25 (18,66)	3 (6,82)#	28 (11,5)	70 (44,59)*	10 (11,24)
GSTM1 D/D - CYP1A1 606G/G	14 (10,45)	2 (4,55)	11 (3,97)	4 (2,53)*	8 (8,99)
GSTM1 D/D - CYP1A1 606T/G	33 (24,63)	5 (11,36)#	33 (11,91)#	8 (5,06)*	19 (21,35)

Примечание. # — $p<0,05$ — относительно контрольной популяции, не заболевшей пневмонией; ## — $p<0,01$ — относительно контрольной популяции, не заболевшей пневмонией; * — $p<0,01$ — внутригрупповое сравнение (при сравнении IIA и IIB).

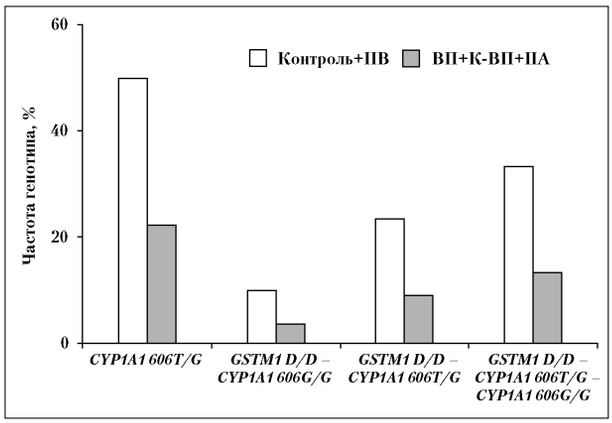

Рис. 1. Частота протективных генотипов в группах с пневмонией (группа ВП + группа К-ВП + группа IIA, *n*=479) и без пневмонии (*n*=223).

поступили 47 человек. После детального обследования диагноз пневмонии был верифицирован в 44-х случаях, в двух — острый бронхит, в одном — диагностирован очаговый туберкулез легких. Среди 44-х заболевших (группа К-ВП) 39 человек (88,64%) из группы риска, т. е. имеют генотипы предрасположенности.

По частоте встречаемости генотипы предрасположенности в группе К-ВП распределились следующим образом: *CYP1A1* 606T/T — 74,36%; *GSTM1* I/* — 61,54%; *ACE* D/D — 34,38%. Причем, в 20-и случаях (из 44-х) было отмечено наличие двух генотипов у одного и того же индивида, а в 3-х случаях зарегистрировано присутствие трех выявленных генотипов предрасположенности.

Анализ частот генотипов у заболевших из группы контроля (К-ВП) выявил высокую степень сопряженности мажорного варианта гена *CYP1A1* с риском развития ВП, различия достоверны по отношению к общему контролю (p=0,0013 по трендовому тесту Армитажа). Этот факт является независимым подтверждением ассоциации аллеля 606T гена *CYP1A1* с риском развития внебольничной пневмонии.

В ходе исследования было выявлено, что в ряде случаев однолокусные эффекты усиливались при рассмотрении комбинаций локусов. С этой точки зрения предрасположенности к возникновению ВП наиболее значимой оказалась комбинация локусов *GSTM1* I/* — *CYP1A1* 606T (OR=1,9 при p=0,006). В группе К-ВП данная комбинация выявлена у 14-и пациентов, что составило 31,82% от всей группы и 70,0% среди других вариантов сочетаний генотипов.

В то же время, альтернативный генотип *CYP1A1* 606G/* в гомо- или гетерозиготном варианте достоверно чаще встречался у здоровых доноров (OR=0,50 при p=0,003), что трактовали как протективный эффект. Совокупность соответствующих результатов представлена в табл. 3, 4 и рис. 1.

Представленные данные свидетельствуют (табл. 4, рис. 1), что генотипы протективной направленности *GSTM1 D/D, CYP1A1 606T/G* встречаются в группах без пневмонии достоверно чаще (p<0,001), чем в случаях развития пневмонии различного генеза. Необходимо отметить, что протективный эффект генотипа 606G/G гена *CYP1A1* в гомозиготном варианте проявился лишь в случаях внебольничной пневмонии (OR=0,50 при p=0,001), тогда как гетерозиготный вариант 606T/G встречается достоверно реже как при внебольничной, так и при нозокомиальной пневмонии (OR=0,50 при p=0,003). Еще более значителен этот эффект у носителей комбинации генотипов: *GSTM1 D/D — CYP1A1 606G/G; GSTM1 D/D — CYP1A1 606T/G; GSTM1 D/D — CYP1A1 606G/G — CYP1A1 606T/G* (p<0,001).

Наиболее показателен этот результат для IIB группы, где были раненые и пострадавшие с тяжелыми сочетанными травмами, а также больные с различными воспалительными заболеваниями, которые при поступлении имели интрапульмональные осложнения (гидроторакс, травматический пневмо- и/или гемоторакс, травматический пульмонит, ОПЛ), но в дальнейшем нозокомиальная пневмония у них не развилась. Носителей протективных генотипов в этой группе было 65,17%, в том числе, сочетаний — 30,34%.

2. Ассоциация выявленных генотипов генов 1-й и 2-й фаз детоксикации ксенобиотиков и гена *ACE* с осложненным течением пневмонии.

В ходе исследования у пациентов первой и второй групп были зарегистрированы различные осложнения течения основного заболевания. В группе I — 193 случая (ВП-осл), что составило 69,68%. Результаты сравнительного анализа свидетельствуют, что при внебольничной пневмонии аллельные варианты трех генов статистически достоверно ассоциированы с развитием

Таблица 5

Встречаемость различных вариантов генотипов по гену *ACE* в случаях развития тяжелых осложнений (ОРДС, ПОН, сепсис) в исследованных группах

Общее количество больных Число осложнений	Значения показателей в группах					
	ВП-осл (*n*=193) *n*=19		ПА (*n*=158) *n*=134		ПВ (*n*=89) *n*=34	
ACE I/I	3 (37,5)	2 (18,18)	27 (47,37)	11 (14,28)##	24 (80,0)	4 (100,0)
ACE I/D	4 (50,0)	2 (18,18)	25 (43,86)	25 (32,47)	4 (13,33)	0 (0,0)
ACE D/D	1 (22,5)	7 (77,78)#	5 (8,77)	41 (53,25)##	2 (6,67)	0 (0,0)
Исход	в=8	у=11	в=57	у=77	в=30	у=4

Примечание. Использованные в таблице «в» и «у» — сокращенное обозначение исхода основного заболевания (выжившие/умершие). # — $p< 0,05$ — по сравнению с «выжившими»; ## — $p< 0,01$ — по сравнению с «выжившими».

осложнений: *GSTM1* I/* (p=0,045, OR=1,4), *CYP1A1* 606T/T (p=0,017, OR=1,62) и *ACE* D/D (p=0,048, OR=1,7).

Для пациентов группы ПА нозокомиальная пневмония уже является осложнением, и риск ее развития ассоциирован с геном *GSTP1* (табл. 1). Необходимо отметить, что во всех случаях развития НП состояние больных и пострадавших ухудшалось. Так, если при поступлении в ОРИТ в подгруппах ПА и ПВ тяжесть состояния по шкале APACHE II существенно не отличалась, составив, соответственно, 14,26±3,13 и 14,81±4,93 баллов, то уже на 7-е сутки госпитализации в подгруппе ПА, где у 137-и пациентов развилась НП, тяжесть состояния составила 21,7±2,91 баллов, тогда как в подгруппе ПВ — 14,17±3,11 баллов.

На рис. 2 показана сравнительная частота развития осложнений в группах с внебольничной и нозокомиальной пневмонией. В группе ВП-осл (193 больных) чаще всего регистрировались инфекционно-токсический шок (ИТШ) — 59,07%, плеврит — 50,78% и токсический миокардит — 13,47%, а в 16-и случаях они сочетались у одного и того же больного; абсцесс легкого, эмпиема плевры составили — 7,25%, ПОН — 1,55%, сепсис — 0,5%. Обращает на себя внимание большая частота развития ОРДС среди больных ВП — 5,70% и некардиогенного отека легких — 1,55%.

Во второй группе частота развития ОРДС, ПОН и сепсиса была значительно выше, что обусловлено основной нозологией (тяжелая сочетанная травма, минно-взрывные ранения, гнойно-воспалительные заболевания различной локализации). При сравнении в подгруппе ПВ (без НП) тяжелые осложнения развивались реже, чем в подгруппе ПА. В подгруппе без НП в 13% случаев развился ОРДС, включая ОПЛ, тогда как в группе с НП — 36,7%; ПОН — 3,0% против 29,8%; сепсис — 1,0% против 15,8%, соответственно (рис. 2).

Проведенное исследование не выявило статистически значимых различий в частоте встречаемости локусов исследованных генов в зависимости от вида развившегося осложнения или исхода основного заболевания.

Однако исследование групп больных показало, что среди тех, у кого развитие тяжелых осложнений (ОРДС, ПОН и сепсис) не привело к фатальному исходу, частота встречаемости ACE I/* в гомозиготном или гетерозиготном вариантах была достоверно выше

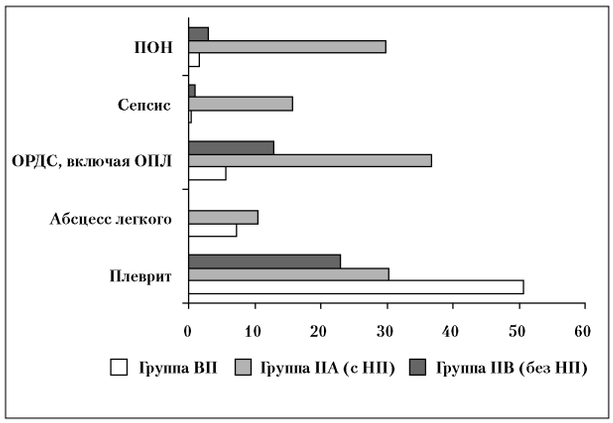

Рис. 2. Развившиеся осложнения у больных в исследованных группах.
По оси абсцисс — частота осложнений, %.

(p≤0,01). Соответствующие результаты представлены в таблице и на рисунке (табл. 5, рис. 2).

В группе ВП-осл тяжелые осложнения (ОРДС, сепсис, ПОН) развились в 19-и случаях (9,84%), выжили менее половины из них — 8 пациентов (42,11%). В группе ПА у 134-х больных (69,43%) зарегистрированы данные осложнения, благоприятный исход был в 57-и случаях (42,54%).

Известно, что ферменты детоксикации ксенобиотиков обеспечивают общую устойчивость организма к факторам внешней и внутренней среды, поэтому необходим баланс в работе ферментов обеих фаз для эффективной детоксикации [10, 11]. Среди изученных нами генов разнонаправленный характер аллельных вариантов относительно риска возникновения пневмонии и осложнений выявлен у гена арил гидрокарбон гидролазы *CYP1A1* и у одного из генов семейства глутатионтрансфераз — *GSTM1*. С одной стороны, мажорный аллель 606T/T гена *CYP1A1* ассоциирован с повышенным риском возникновения как острой внебольничной пневмонии (табл. 1), так и с развитием осложнений при ней. С другой стороны, гетерозиготный вариант данного аллеля 606T/G продемонстрировал протективный эффект при пневмонии различного генеза, особенно в случаях сочетания с делеционным вариантом гена *GSTM1D/D* (p<0,01). Возможный механизм протективного действия делеционного аллеля *GSTM1* связан с гипотетической избыточностью активности ферментов

глутатионового пула. Это косвенно подтверждается высокой частотой делеционного полиморфизма *GSTM1*, а также частичной перекрестной субстратной специфичностью некоторых глутатион-S трансфераз (*GSTM, GSTP* и *GSTT*) [12, 13]. В свою очередь, высокая активность фермента первой фазы — *CYP1A1*, может рассматривается как дестабилизирующий фактор процесса детоксикации ксенобиотиков. Rotunno M. с соавт. (2009) и Wang K. с соавт. (2010) в исследованиях по изучению рака легких также отмечали различие эффектов функционального полиморфизма гена *CYP1A1* [14, 15].

Гены второй стадии детоксикации ксенобиотиков — *GSTM1* и *GSTP1* (отдельно), ассоциированы с предрасположенностью к возникновению пневмонии и развитию осложнений: ген *GSTM1* — в случаях внебольничной пневмонии, а ген *GSTP1* — нозокомиальной (табл. 2). В результате проведенного исследования мы не получили статистически достоверных данных о сопряженности определенного генотипа с конкретным видом осложнений.

Третий локус, по которому было выявлено ассоциирование с высоким риском возникновения внебольничной пневмонии, — *ACE*. Ряд исследователей связывают наличие или отсутствие 287 п. о. элементов повторения Alu в этом гене с уровнями циркулирующих ферментов и изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы, но характер этих взаимоотношений пока не определен [16—19]. В исследованиях, проведенных Godschalk R. W. с соавт. (2001); Habdous M. с соавт. (2004) было отмечено, что гомозиготы по делеции гена *ACE* D/D ассоциированы с риском развития ПОН [20, 21]. В когортных исследованиях по изучению ОРДС у новорожденных показано, что одним из факторов риска развития дистресс-синдрома является генетическая предрасположенность [22—27], а именно, участие генов цитокиновой сети и *ACE* в формировании дыхательных расстройств [28]. В ходе проведенного нами исследования мы не получили статистически достоверных данных о сопряженности полиморфизма по изученным генам на риск развития ПОН, ОРДС или сепсиса (отдельно) в обследованной популяции больных. Но установили, что благоприятный исход при развитии вышеперечисленных осложнений достоверно выше (p<0,01) у тех, кто имеет аллельные варианты I/I, I/D гена *ACE*. Похожие результаты были отмечены в исследовании De Mesa R. L. (2002) [29].

Знание генотипа по кандидатным локусам важны для выявления групп наличия/отсутствия риска по изученным когортам: внебольничные пневмонии, нозокомиальные пневмонии и осложнения при них. Важно подчеркнуть, что само наличие неблагоприятного аллеля не позволяет судить ни о времени начала заболевания, ни о его тяжести. Нельзя также утверждать, что обследуемый наверняка заболеет именно этой болезнью. Генетическое тестирование в досимптоматический период дает возможность выявить существующие пока только в геноме наследственные тенденции к развитию будущих болезней и, исходя из современного врачебного опыта, наметить пути их ранней профилактики.

Выявление группы риска по развитию пневмонии дало ощутимые результаты, что проявилось в снижении частоты развития осложнений. Госпитализация больных внебольничной пневмонией на ранних сроках болезни (что было осуществлено для заболевших из группы К-ВП) позволило минимизировать развитие осложнений, ни одному пациенту из группы К-ВП не проводили ИВЛ, длительность госпитализации сократилась почти в два раза (с 35,53±14,21 до 16,1±4,4 суток), не было ни одного случая летального исхода.

Заключение

В результате проведенного исследования выявлена взаимосвязь полиморфизма генов первой и второй фаз детоксикации ксенобиотиков (*CYP1A1, GSTM1*) и гена *ACE* с предрасположенностью к развитию внебольничной пневмонии и ее осложнений, а гена *GSTP1* — с риском возникновения нозокомиальной пневмонии. Аллельные варианты этих генов детерминируют риск развития пневмонии различного генеза в связи с изменением активности кодируемых ими ферментов. Так же были выявлены генотипы и их сочетания протективной направленности (*CYP1A1* 606G/*, *GSTM1* D/D) относительно риска возникновения пневмонии.

Литература

1. Генетика бронхолегочных заболеваний. Пузырев В. П., Огородова Л. М. (ред.). М.: Атмосфера; 2010.
2. *Сеитова Г. Н., Буйкин С. В., Рудко А. А., Фрейдин М. Б.* Наследственность и болезни легких (Наследственность и здоровье), Учебное пособие. Пузырев В. П. (ред.). Томск: Печатная мануфактура; 2008.
3. *Lockwood W. W., Chari R., Chi B., Lam W. L.* Recent advances in array comparative genomic hybridization technologies and their applications in human genetics. Eur. J. Hum. Genet. 2006; 14 (2): 139—148.
4. *Pugin J., Auckenthaler R., Mili N. et al.* Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriological analysis of bronchoscopic and non bronchoscopic «blind» bronchoalveolar lavage fluid. Am. Rev. Respir. Dis. 1991; 143 (5Pt 1): 1121—1129.
5. *Сальникова Л. Е., Фомин Д. К., Елисова Т. В. и соавт.* Изучение связи цитогенетических и эпидемиологических показателей с генотипами у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиология 2008; 48 (3): 303-312.
6. Электронная ссылка программы Primer3 [http://frodo.wi.mit.edu/primer3/].
7. Электронная ссылка (трендовый тест Армитажа) [http://www.biomedcentral.com/1753-6561/3/S7/S37].
8. Электронная ссылка on-line программы SNPStats [http://bioinfo.iconcologia.net].
9. *Сальникова Л. Е., Смелая Т. В., Мороз В. В. и соавт.* Генетическая предрасположенность к развитию острой внебольничной пневмонии. Общая реаниматология 2010; VI (1): 5—11.
10. *Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В.* Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину. СПб.: Интермедика; 2000.
11. *Ivaschenko T., Sideleva O., Baranov V.* Glutathione-S-transferase micro and theta gene polymorphisms as new risk factors of atopic bronchial asthma. J. Mol. Med. 2002; 80 (1): 39—43.
12. *Kirsch-Volders M., Mateuca R. A., Roelants M. et al.* The effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2006; 15 (5): 1038—1042.
13. *Сальникова Л. Е., Иванова Т. И., Кондрашова Т. В. и соавт.* GSTM1: иметь или не иметь? Технологии живых систем 2009; 2: 31—38.
14. *Rotunno M., Yu K., Lubin J. H. et al.* Phase I metabolic genes and risk of lung cancer: multiple polymorphisms and mRNA expression. PLoS One 2009; 4 (5): e5652.

15. *Wang K., Baldassano R., Zhang H. et al.* Comparative genetic analysis of inflammatory bowel disease and type 1diabetes implicates multiple loci with opposite effects. Hum. Mol. Genet. 2010; 19 (10): 2059-2067.
16. *Casas J. P., Hingorani A. D., Bautista L. E., Sharma P.* Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18,000 cases and 58,000 controls. Arch. Neurol. 2004; 61 (11): 1652—1661.
17. *Wakahara S., Konoshita T., Mizuno S. et al.* Synergistic expression of angiotensin-converting enzyme (ACE) and ACE2 in human renal tissue and confounding effects of hypertension on the ACE to ACE2 ratio. Endocrinology 2007; 148 (5): 2453—2457.
18. *Payne J. R., Dhamrait S. S., Gohlke P. et al.* The impact of ACE genotype on serum ACE activity in a black South African male population. Ann. Hum. Genet. 2007; 71 (Pt 1): 1—7.
19. *Han T. Y., Li Z. L., Ye H. M.* Relationship of the disease severity with ACE gene polymorphism and serum ACE activity in preterm infants. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi 2008; 10 (6): 693—696.
20. *Godschalk R. W., Ostertag J. U., Zandsteeg A. M.* Impact of GSTM1 on aromatic-DNA adducts and P53 accumulation in human skin and lymphocytes. Pharmacogenetics 2001; 11 (6): 537—543.
21. *Habdous M., Herbeth B., Haddy N. et al.* Smoking, genetic polymorphisms of glutathione S-transferases and biological indices of inflammation and cellular adhesion in the STANISLAS study. EXCLI J. 2004; 3: 58—67.
22. *Haataja R., Marttila R., Uimari P. et al.* Respiratory distress syndrome: evaluation of genetic susceptibility and protection by transmission disequilibrium test. Hum. Genet. 2001; 109 (3): 351—355.
23. *Makri V., Hospes B., Stoll-Becker S. et al.* Polymorphisms of surfactant protein B encoding gene: modifiers of the course of neonatal respiratory distress syndrome? Eur. J. Pediatr. 2002; 161 (11): 604—608.
24. *van Sonderen L., Halsema E. F., Spiering E. J., Koppe J. G.* Genetic influences in respiratory distress syndrome: a twin study. Semin. Perinatol. 2002; 26 (6): 447—449.
25. *Marttila R., Haataja R., Rämet M. et al.* Surfactant protein B polymorphism and respiratory distress syndrome in premature twins. Hum. Genet. 2003; 112 (1): 18—23.
26. *Floras J.* Sleep apnea in heart failure: implications of sympathetic nervous system activation for disease progression and treatment. Curr. Heart Fail Rep. 2005; 2 (4): 212—217.
27. *Аульченко Ю. С., Аксенович Т. И.* Методические подходы и стратегии картирования генов, контролирующих комплексные признаки человека. Информ. вестн. ВОГиС 2006; 10 (1): 189—202.
28. *Богданова Р. З., Фатыхова А. И., Данилко К. В. и соавт.* Генетические маркеры дыхательных расстройств у новорожденных. Вопросы практич. педиатрии 2008; 3 (6): 12—16.
29. *de Mesa R. L., Sierrasesúmaga L., de Cerain A. L. et al.* Pediatric meningosarcoma: clinical evolution and genetic instability. Pediatr. Neurol. 2005; 32 (5): 352—354.

Поступила 18.02.11

Календарь ключевых международных мероприятий по анестезиологии-реаниматологии в 2011 г.

11—15 апреля 2011 г.
NWAC World Anesthesia Congress 2011.
Rome, Italy
www.worldanesthesia.com

29 апреля — 4 мая 2011 г.
33rd Annual Meeting and Workshops Society of Cardiovascular Anesthesiologists.
Savannah, GA
www.scahq.org

5—8 мая 2011 г.
American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine (ASRA)
36th Annual Regional Anesthesia Meeting and Workshops 2011.
Las Vegas, United States
E-mail: asra@asahq.org

11—15 мая 2011 г.
58th Annual Meeting Association of University Anesthesiologists.
Philadelphia, PA
E-mail: dionne@asahq.org

11—14 июня 2011 г.
Euroanesthesia 2011.
Amsterdam, Netherlands
www.euroanesthesia.org

3—6 сентября 2011 г.
33th Congress of Clinical Nutrition and Metabolism.
Gotenborg, Sweden
www.espen.org

14—17 сентября 2011 г.
European Burns Association Congress 2011.
The Hague, Netherlands
E-Mail: r.zikkenheimer@congresscare.com

1—5 октября 2011 г.
24th European Society of Intensive Care Medicine Annual Congress.
Berlin, Germany. www.esicm.org

15—19 октября 2011 г.
American Society of Anesthesiologists Annual Meeting. Chicago, Il. www.ASAhq.org