

## Частота встречаемости полиморфизма +230G/A гена MBL у жителей Санкт-Петербурга

Романов А.О.<sup>1</sup>, Беляева Т.В.<sup>1</sup>, Красильщикова И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. акад. И.П.Павлова

<sup>2</sup>НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

### ВВЕДЕНИЕ

Маннозосвязывающий лектин (MBL) является важным элементом врожденного иммунитета, взаимодействуя с N-ацетилглюкозамином и маннозой, содержащимися в составе липополисахаридов клеточной стенки бактериальных клеток, грибов и в составе гликопротеинов на поверхности вирусных частиц [26, 20, 11, 27] и практически отсутствующих на мембранах клеток млекопитающих, активирует классический путь комплемента без участия антител и C1q фактора, вызывает осмозис и опосредует фагоцитоз микроорганизмов [16].

Белок MBL синтезируется макрофагами печени. Ген MBL локализован в области q11.2-q21 хромосомы 10 и включает четыре экзона. В гене MBL идентифицировано семь полиморфизмов. В промоторной области в позиции -550G/C (H/L вариант), -221G/C (Y/X вариант), -70C/T, +4C/T (P/Q вариант) в 5'-нетранслируемом регионе, а также в первом экзоне в позиции +223C/T (Arg52Cys), в позиции +230G/A (Gly54Asp), в позиции +239G/A (Gly57Glu), обозначаемые соответственно A/D, A/B и A/C. Замена глицина в 54 и 57 кодонах отрицательно заряженной аминокислотой нарушает структуру  $\alpha$ -спирали, образованной последовательностью из девятнадцати Gly-X-Y (Gly-глицин, X и Y любые аминокислоты) повторов в коллагеноподобном домене белковой цепи, и препятствует образованию олигомера [12, 15]. Эти конформационные изменения нарушают маннозный путь активации комплемента и вызывают иммунодефицитное состояние.

Вследствие сцепления аллелей встречаются только семь гаплотипов NYQA, LYQA, LYPA, LXPA, LYPB, LYQC и NYPD. Гаплотип NY ассоциируется с высоким плазменным уровнем MBL, LY гаплотип со средним, гаплотип LX связан со снижением концентрации белка MBL в плазме крови, нормальные значения которой составляют от 1200 до 4500 нг/мл [17, 30], однако уровень циркуляции MBL у гомозигот LXPA/LXPA соответствует 1000 нг/мл [4]. Эти данные свидетельствуют, что низкая концентрации белка MBL в сыворотке крови, менее 50

нг/мл, связана с присутствием мутантных аллелей полиморфизмов, локализованных в первом экзоне. Следует отметить, что вариант D в противоположность аллелям В и С не изменяет глициновую последовательность  $\alpha$ -спирали и связан с повышенным уровнем циркулирующего белка [17].

Частота встречаемости аллелям В среди населения северного полушария составляет 11-16%, аллеля С не более 1%, в то время как у населения центральноафриканских стран 0-1% и 23--29%, соответственно. Учитывая очень низкую встречаемость аллеля С, его вклад в развитие иммунодефицитного состояния у жителей европейского континента незначителен. Аллель А полиморфизма +230G/A гена MBL связан с повышенным риском развития тяжелых форм бактериальных, и вирусных инфекций у детей [2, 10, 14,] и взрослых [6, 7, 9, 23, 32], а также инфекционных осложнений у ВИЧ инфицированных [13, 3] и онкологических больных, получающих химиотерапевтические препараты [21, 22]. Наследование аллелей происходит по аутосомнодоминантному принципу [25].

Учитывая важность иммунодефицита, обусловленного полиморфизмом +230G/A гена MBL и отсутствие литературных данных о его встречаемости в российской популяции, представляется актуальным определение частот генотипов и аллелей у жителей Санкт-Петербурга.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были обследованы 122 здоровых донора, 42 (34%) мужчин и 80 (66%) женщин в возрасте от 19 до 57 лет, находящихся на учете в отделении переливания крови НИИ АГ им.Д.О.Отта РАМН.

Биаллельный полиморфизм MBL+230G/A идентифицировали методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов продуктов полимеразной цепной реакции в соответствии с опубликованным методом [25].

Выявленное распределение частот генотипов проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга с использованием критерия  $\chi^2$  [1].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таблица 1. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфного участка +230 первого экзона гена MBL у здоровых доноров

Генотип, аллели	GG (Gly/Gly)	GA (Gly/Asp)	AA (Asp/Asp)	Аллель G	Аллель A
Группа доноров N=122 (%)	87 (71%)	30 (25%)	5 (4%)	204 (84%)	40 (16%)

Распределения генотипов (Табл.1) соответствовали ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга.

Сопоставляя полученные данные с результатами генотипирования 100 здоровых добровольцев из западноевропейской популяции представленными [24], где частота генотипа G/G составила 76%, генотипа G/A-23% и генотипа A/A-2% позволяют говорить о значительном сходстве в распределении генотипов и аллелей полиморфизма +230G/A гена MBL в данных популяциях. Исследование, проведенное в японской популяции и включавшее анализ диалельного полиморфизма +230G/A гена MBL у 218 здоровых добровольцев [18], показывает более высокую частоту встречаемости генотипов, несущих мутантный аллель A, генотип G/G был определен у 130 (59,6%) человек, генотип G/A у 65 (29,8%) и генотип A/A у 23 (10,6%).

Высокая встречаемость мутантного аллеля A гена MBL в популяции Санкт-Петербурга (Табл.1), говорит о том, что это может являться частой причиной нарушения иммунного статуса пациентов и генотипирование по данному полиморфному маркеру представляет не только научный, но и большой практический интерес при выборе режима антибактериальной терапии, решении вопроса о стационарном или амбулаторном варианте лечения.

Наличие мутантного аллеля A гена MBL значительно повышает вероятность рецидивирования респираторных инфекций у детей и взрослых [2, 8, 14, 31]. По данным [19] пересадка костного мозга от донора, в генотипе которого присутствует мутантный аллель A гена MBL, существенно увеличивает риск развития инфекционных осложнений после трансплантации, таким образом анализ полиморфизма +230G/A гена MBL при подборе донорского материала.

Значение MBL в развитии инфекционных осложнений вызвало интерес к заместительной терапии. Впервые об успешном применении внутривенных инфузий, выделенного из донорской плазмы белка MBL, для лечения рецидивирующей инфекционной патологии у двухлетней девочки и последующего наблюдения в течение восьми лет сообщили [28]. Имеется опыт применения внутривенных инфузий MBL для лечения тяжелой инфекции легких, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* у больного муковисцидозом [5]. Первая фаза фармакокинетических

исследований препарата MBL для внутривенного введения показала, что для поддержания нормального уровня белка в крови (1200-4500 нг/мл) необходимо двух-трехкратная инфузия 6 мг препарата в неделю, период полувыведения составляет три дня[29, 30]. Эти данные позволяют говорить, что при необходимости больному с генотипом +230A/A или +230G/A уровень белка MBL в крови можно поддерживать посредством переливания свежезамороженной плазмы от донора с генотипом +230G/G.

## ВЫВОДЫ

Учитывая данные о высокой частоте встречаемости мутантного аллеля +230A гена MBL в популяции Санкт-Петербурга, которая составляет 16%, анализ иммунного статуса пациентов должен включать генотипирование по полиморфному маркеру +230G/A гена MBL.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М: Наука, 1991. 269с.
2. Cedzynski M, Szemraj J, Swierzko AS, Bak-Romaniszyn L, Banasik M, Zeman K, Kilpatrick DC. Mannan-binding lectin insufficiency in children with recurrent infections of the respiratory system. Clin Exp Immunol. 2004 May;136(2):304-11.
3. Garred P, Madsen HO, Balslev U, Hofmann B, Pedersen C, Gerstoft J, Svejgaard Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. Lancet. 1997 Jan 25;349(9047):236-40
4. Garred P, Pressler T, Madsen HO, Frederiksen B, Svejgaard A, Hoiby N, Schwartz M, Koch C. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. J Clin Invest. 1999 Aug;104(4):369-70.
5. Garred P, Pressler T, Lanng S, Madsen HO, Moser C, Laursen I, Balstrup F, Koch C. Mannose-binding lectin (MBL) therapy in an MBL-deficient patient with severe cystic fibrosis lung disease. Pediatr Pulmonol. 2002 Mar;33(3):201-7
6. Garred P, J Strom J, Quist L, Taaning E, Madsen HO. Garred P, J Strom J, Quist L, Taaning E, Madsen HO. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with sepsis and fatal outcome, in patients with systemic inflammatory response syndrome. J Infect Dis. 2003 Nov 1;188(9):1394-403.
7. Garred P, Madsen HO. Genetic Susceptibility to Sepsis: A Possible Role for Mannose-binding Lectin. Curr Infect Dis Rep. 2004 Oct;6(5):367-373.
8. Gomi K, Tokue Y, Kobayashi T, Takahashi H, Watanabe A, Fujita T, Nukiwa T. Mannose-binding lectin gene polymorphism is a modulating factor in repeated respiratory infections. Chest. 2004

Jul;126(1):95-9.

9. Hakozaki Y, Yoshiba M, Sekiyama K, Seike E, Iwamoto J, Mitani K, Mine M. Mannose-binding lectin and the prognosis of fulminant hepatic failure caused by HBV infection. *Liver*. 2002 Feb;22(1):29-34.

10. Hibberd ML, Sumiya M, Summerfield JA, Booy R, Levin M. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. Meningococcal Research Group. *Lancet*. 1999 Mar 27;353(9158):1049-53

11. Ip WK, Lau YL. Role of mannose-binding lectin in the innate defense against *Candida albicans*: enhancement of complement activation, but lack of opsonic function, in phagocytosis by human dendritic cells. *J Infect Dis*. 2004 Aug 1;190(3):632-40.

12. Kawasaki T. Structure and biology of mannan-binding protein, MBP, an important component of innate immunity. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Dec 6;1473(1):186-95;

13. Kelly P, Jack DL, Naeem A, Mandanda B, Pollok RC, Klein NJ, Turner MW, Farthing MJ. Mannose-binding lectin is a component of innate mucosal defense against *Cryptosporidium parvum* in AIDS. *Gastroenterology*. 2000 Nov;119(5):1236-42.

14. Koch A, Melbye M, Sorensen P, Homoe P, Madsen HO, Molbak K, Hansen CH, Andersen LH, Hahn GW, Garred P. Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *JAMA*. 2001 Mar 14;285(10):1316-21.

15. Larsen F, Madsen HO, Sim RB, Koch C, Garred P. Disease-associated mutations in human mannose-binding lectin compromise oligomerization and activity of the final protein. *J Biol Chem*. 2004 May 14;279(20):21302-11

16. Ma YG, Cho MY, Zhao M, Park JW, Matsushita M, Fujita T, Lee BL. Human mannose-binding lectin and L-ficolin function as specific pattern recognition proteins in the lectin activation pathway of complement. *J Biol Chem*. 2004 Jun 11;279(24):25307-12.

17. Madsen HO, Garred P, Thiel S, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, Svejgaard A. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol*. 1995 Sep 15;155(6):3013-20

18. Matsushita M, Hijikata M, Ohta Y, Iwata K, Matsumoto M, Nakao K, Kanai K, Yoshida N, Baba K, Mishiro S. Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. *Arch Virol*. 1998;143(4):645-51

19. Mullighan CG, Heatley S, Doherty K, Szabo F. Mannose-binding lectin gene polymorphisms are associated with major infection following allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2002 May 15;99(10):3524-9

20. Neth O, Jack DL, Dodds AW, et al. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun* 2000; 68:688–93.
21. Neth O, Hann I, Turner MW, Klein NJ. Deficiency of mannose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy: a prospective study. *Lancet*. 2001 Aug 25;358(9282):614-8.
22. Peterslund NA, Koch C, Jensenius JC, Thiel S. Association between deficiency of mannose-binding lectin and severe infections after chemotherapy. *Lancet*. 2001 Aug 25;358(9282):637-8
23. Song le H, Binh VQ, Duy DN, Juliger S, Bock TC, Luty AJ, Kremsner PG, Kun JF. Mannose-binding lectin gene polymorphisms and hepatitis B virus infection in Vietnamese patients. *Mutat Res*. 2003 Jan 28;522(1-2):119-25.
24. Steffensen R, Thiel S, Varming K, Jersild C, Jensenius JC. 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 Jul 31;241(1-2):33-42
25. Sumiya M, Super M, Tabona P, Levinsky RJ, Arai T, Turner MW, Summerfield JA. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet*. 1991 Jun 29;337(8757):1569-70
26. Swanson AF, Ezekowitz RA, Lee A, Kuo CC. Human mannose-binding protein inhibits infection of HeLa cells by *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun*. 1998 Apr;66(4):1607-12.
27. Thielens NM, Tacnet-Delorme P, Arlaud GJ. Interaction of C1q and mannan-binding lectin with viruses. *Immunobiology*. 2002 Sep;205(4-5):563-74
28. Valdimarsson H, Stefansson M, Vikingsdottir T, Arason GJ, Koch C, Thiel S, Jensenius JC. Reconstitution of opsonizing activity by infusion of mannan-binding lectin (MBL) to MBL-deficient humans. *Scand J Immunol*. 1998 Aug;48(2):116-23.
29. Valdimarsson H. Infusion of plasma-derived mannan-binding lectin (MBL) into MBL-deficient humans. *Biochem Soc Trans*. 2003 Aug;31(Pt 4):768-9.
30. Valdimarsson H, Vikingsdottir T, Bang P, Saevarsdottir S, Gudjonsson JE, Oskarsson O, Christiansen M, Blou L, Laursen I, Koch C. Human plasma-derived mannose-binding lectin: a phase I safety and pharmacokinetic study. *Scand J Immunol*. 2004 Jan;59(1):97-102
31. Yang IA, Seeney SL, Wolter JM, Anders EM. Mannose-binding lectin gene polymorphism predicts hospital admissions for COPD infections. *Genes Immun*. 2003 Jun;4(4):269-74.
32. Yuen MF, Lau CS, Lau YL, Wong WM, Cheng CC, Lai CL. Mannose binding lectin gene mutations are associated with progression of liver disease in chronic hepatitis B infection. *Hepatology*. 1999 Apr;29(4):1248-51.