

Polimorfizmi gena u aspergilozi

Vera Pravica
Medicinski fakultet
Univerzitet u Beogradu

Klasifikacija aspergiloze

Respiratorni put
unošenja
Aspergillus-a

Invazivna aspergiloza

- Akutna
- Subakutna/hronična nekrotizirajuća

Hronična aspergiloza

- Hronična kavitarna pulmonalna (CCPA)
- Hronična fibrozirajuća pulmonalna
- Aspergilom pluća
- Hronični invazivni sinuzitis
- Aspergilom maksilarnog sinusa

Alergijska

- Alergijska bronhopulmonalna (ABPA)
- Ekstrinzički alergijski (bronho)alveolitis (EAA)
- Astma sa senzitivizacijom na gljive
- Alergijski aspergilusni sinuzitis

Mutacije gena koje u toku evolucije postanu stabilne u populaciji i imaju frekvenciju alela višu od 1% nazivaju se **polimorfizmi gena**

DNK polimorfizmi se javljaju na svakih nekoliko stotina nukleotida u ljudskom genomu

Od posebnog interesa su genski polimorfizmi u regulatornim regionima (promotor, 5' UTR, introni, 3' UTR).

Tipovi genskih polimorfizama

- promena pojedinačnih nukleotida (single nucleotide polymorphisms -SNP)
- insercije, delecije nukleotida
- minisateliti/mikrosateliti - ponavljane kratke DNK sekvence
- polimorfizmi sa promenljivim brojem ponavljanih sekvenci (variable number of tandem repeats - VNTR)

Polimorfizmi gena kandidata
vs
GWAS

Manoza vezujući protein (Mannosa binding protein - MBP)

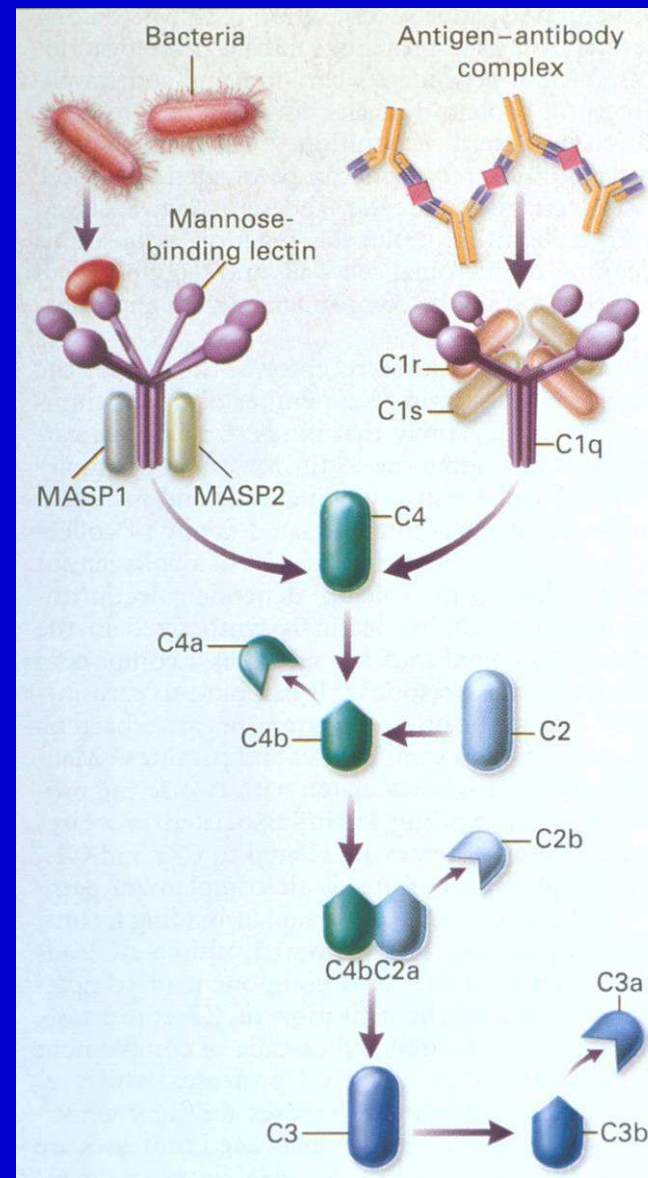
MBP vezuje hife *A. Fumigatus*-a *in vitro*

2 SNP-a u promotoru
3 SNP-a u kodirajućoj sekvenci
(kodon 52, kodon 54, kodon 57)

868 C/T (rs5030737) Arg52Cys

Kodon 54 polimorfizam je prisutan kod
16% ljudi bele rase poreklom iz Evrope

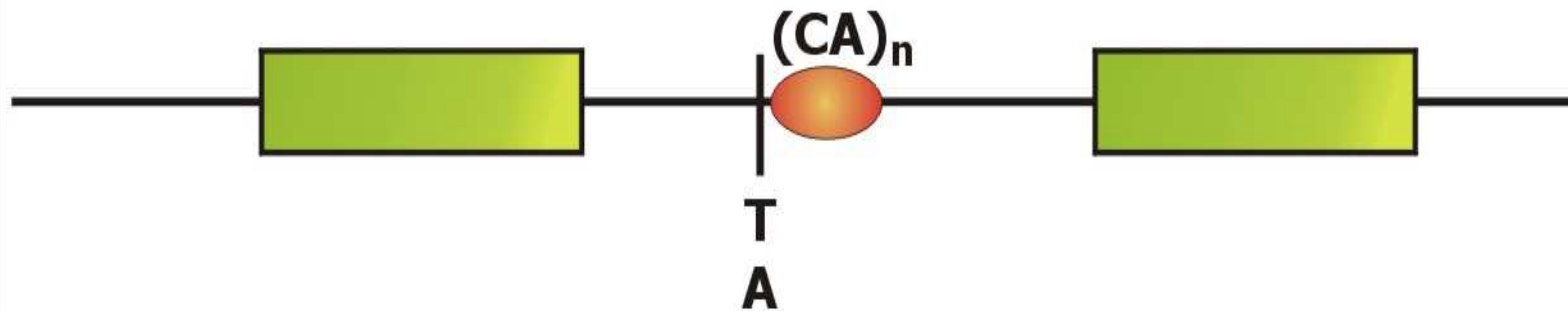
Kod dece ovaj polimorfizam je u asocijaciji
sa bakterijskim infekcijama i hepatitisom B



Genski polimorfizmi u invazivnoj
aspergilozi
IFN- γ , IL-1 β , TNF- α , TNFRs, TLR4,
TLR9

Ok M *et al*, Int J Med Microbiol
2011

IFN- γ polimorfizam



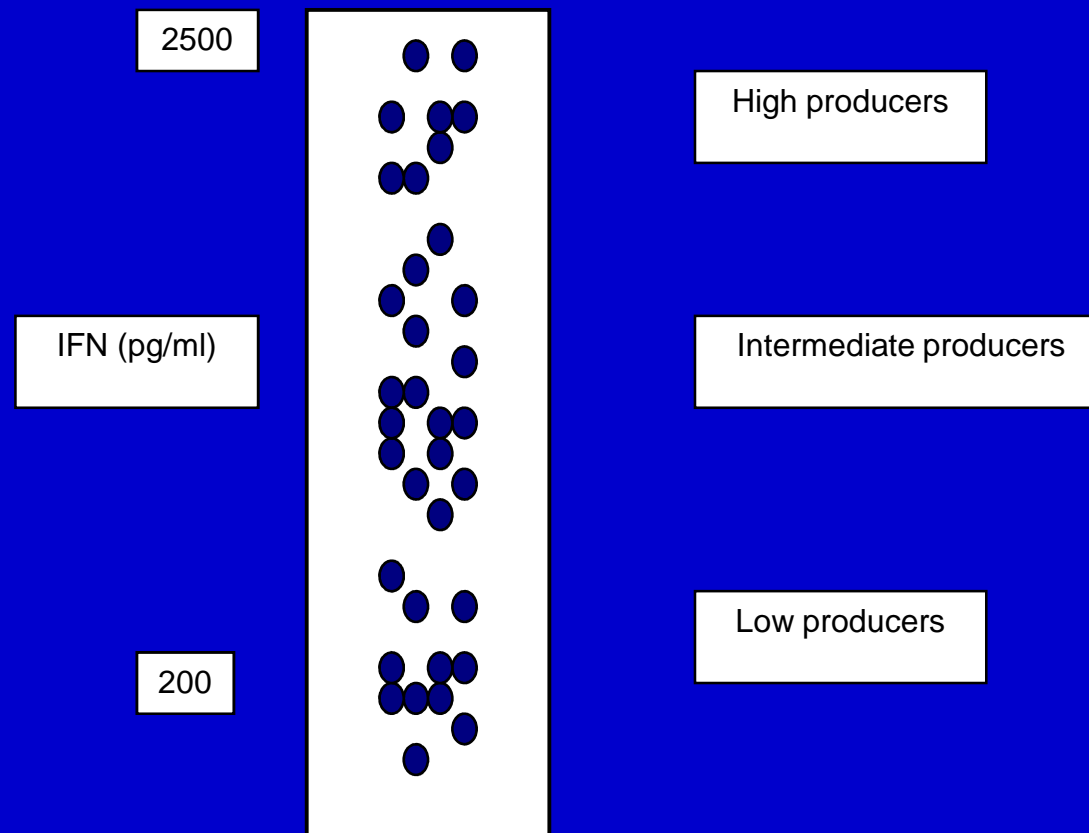
T and $(CA)_{12}$ = higher IFN- γ production

A and $(CA)_{11,13,14,15}$ = lower IFN- γ production

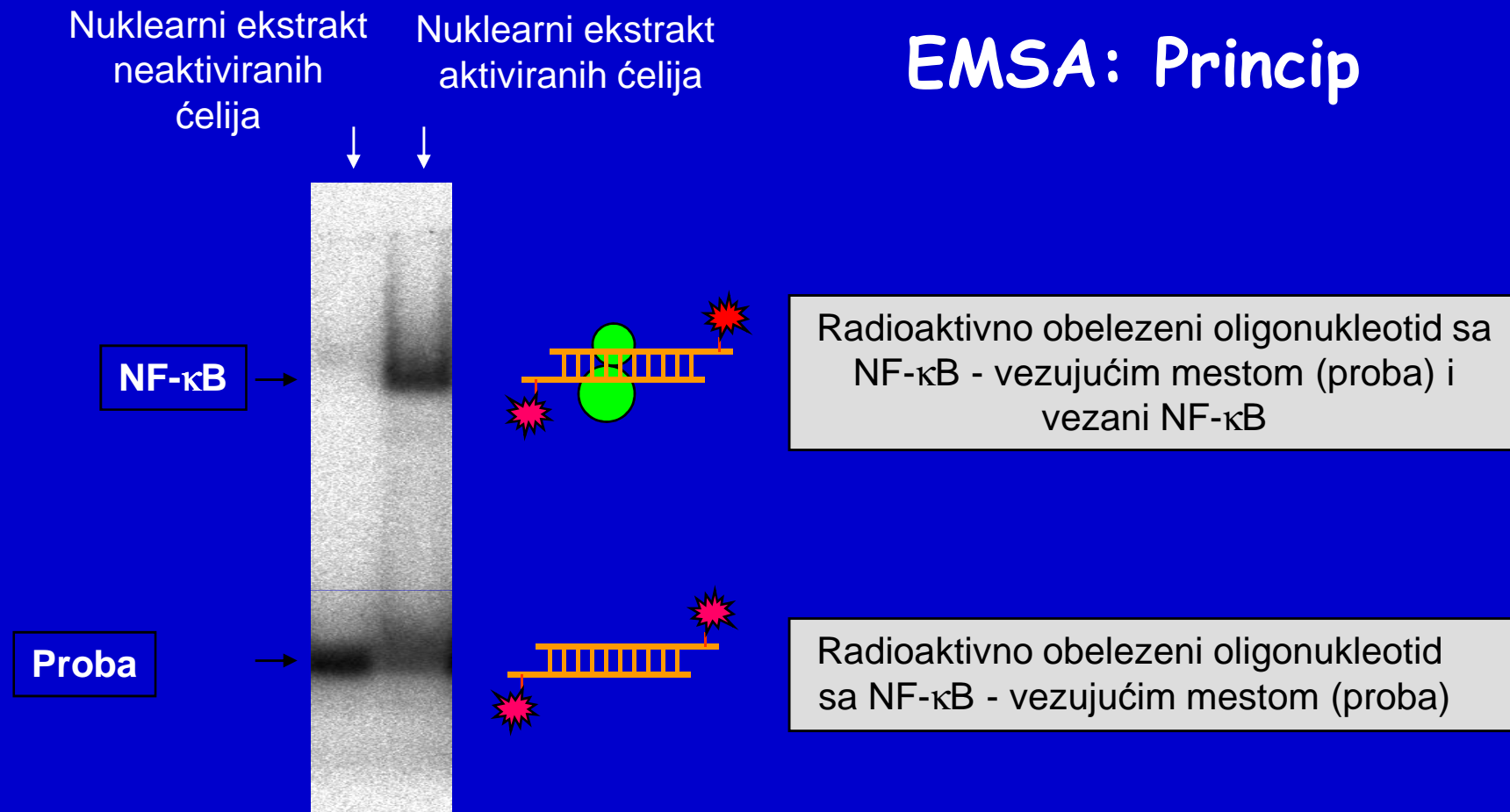
Pravica et al, 1998

Pravica et al, 2000

Individualne varijacije u produkciji IFN- γ

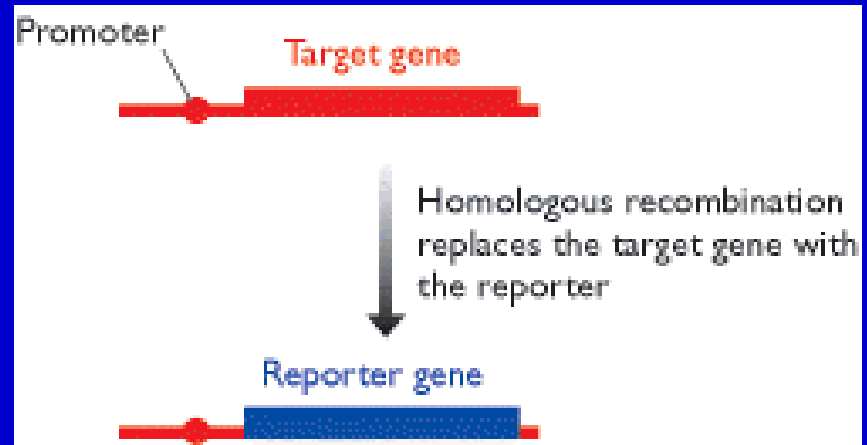


EMSA: Princip



Dvolančani oligonukleotid koji sadrži NF-κB - vezujuće mesto je obelezen radioaktivnim izotopom i inkubiran sa nuklearnim ekstraktom

Reporter Gene Assay



| <u>Gen</u> | Genski produkt | Esej |
|------------|----------------|------|
|------------|----------------|------|

lacZ

β -galaktozidaza

histohemijski test

uidA

β -glukuronidaza

histohemijski test

lux

luciferaza

luminescencija

TNFR1

-383 A/C (rs2234649)

-609 G/T (rs4149570) ICSBP/IRF-8

+36 A/G (rs767455)

Sainz J *et al*, Int J Immunopathol
Pharmacol 2010

TLRs

TLR4 + 1063 A/G (rs4986790) Asp299Gly

TLR9 -1237 C/T (rs5743836)

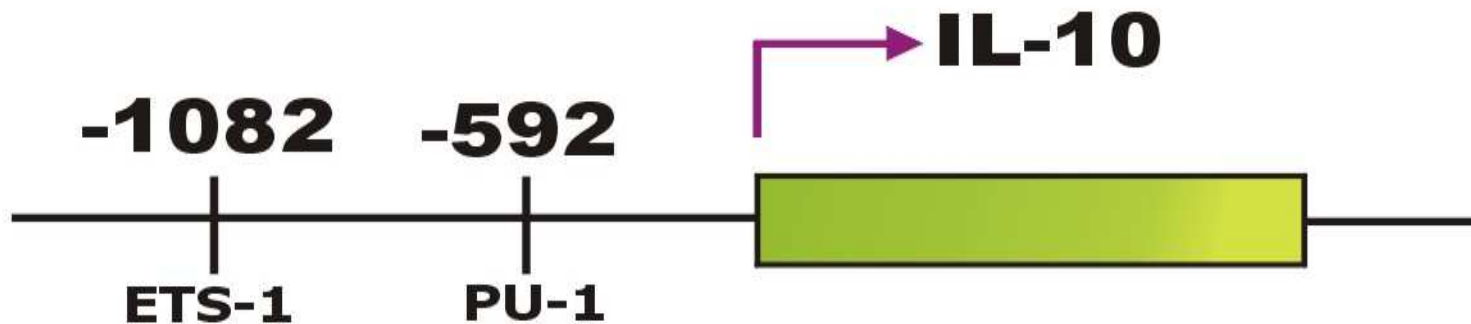
Carvalho A *et al*, J Infect Dis 2008

Hronična kavitarna pulmonalna aspergiloza (CCPA) i polimorfizmi gena za citokine

- CCPA (n=24)
- Ostali oblici aspergiloze, najviše alergijski tip (n=15)
- Kontrolna grupa (n=130-660)

Polimorfizmi gena za IL-10, TNF- α , IFN- γ and TGF- β 1 su detektovani metodom SSP-PCR

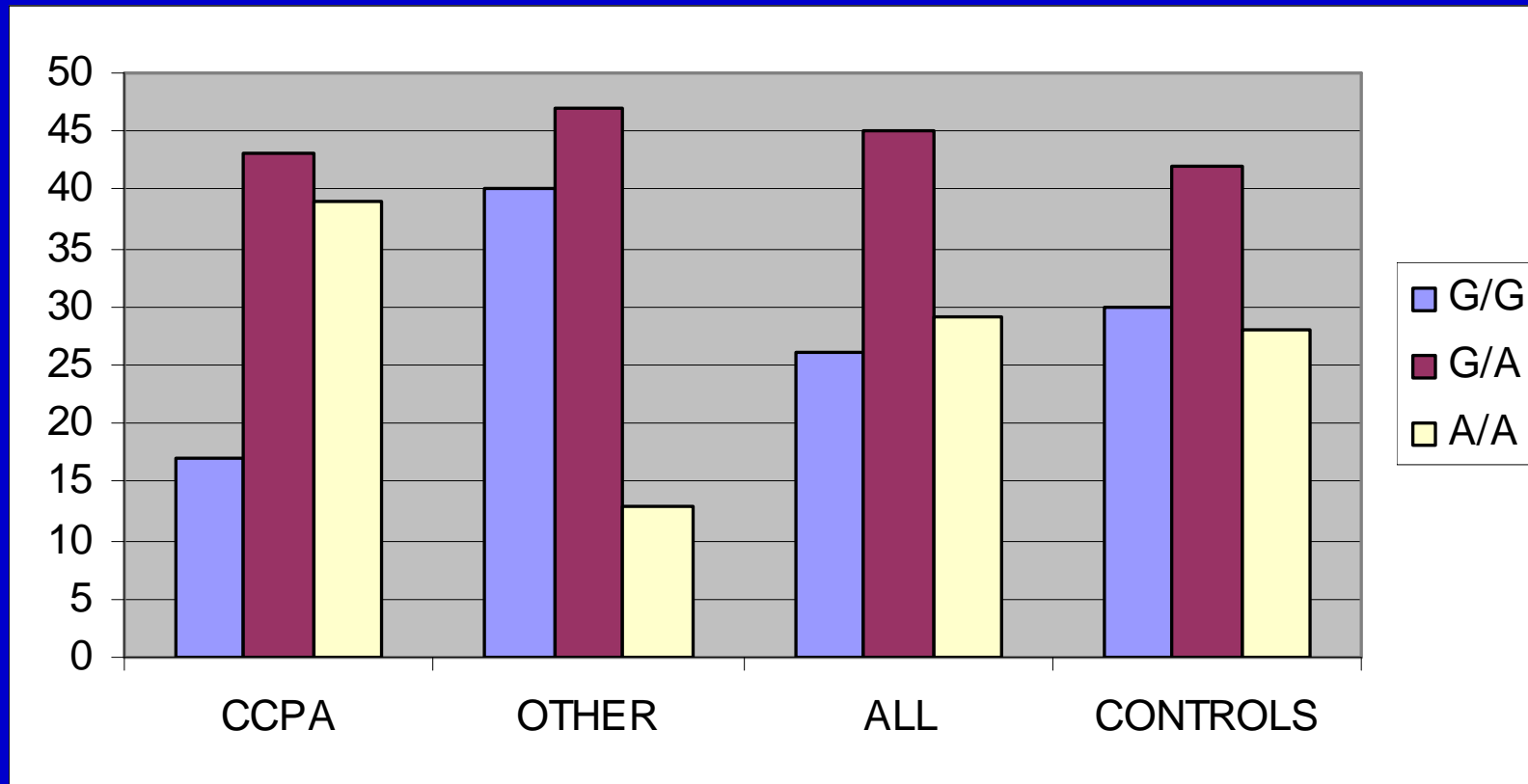
IL-10 genski polimorfizam



-1082: G = Higher Lymphocyte production
A = Lower lymphocyte production

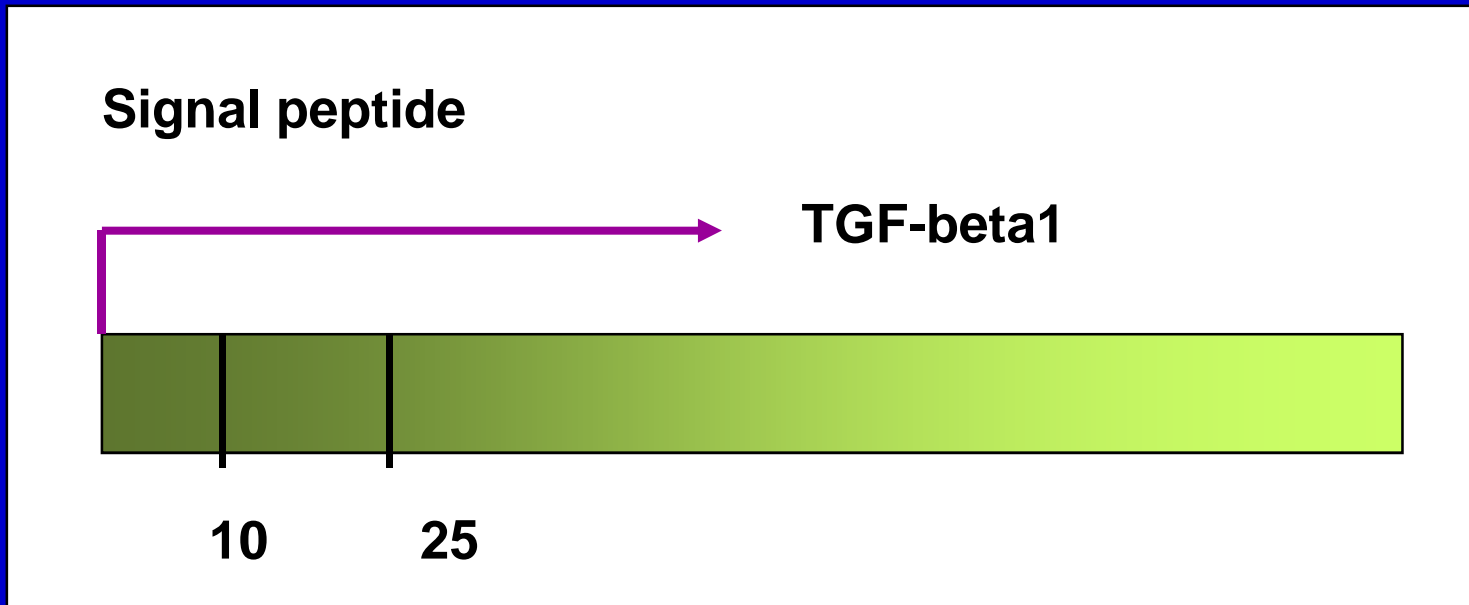
-592: C = Higher monocyte production
A = Lower monocyte production

CCPA i IL-10 -1082 G/A polimorfizam



IL-10 -1082*G alel ima nižu frekvenciju ($p=0.0006$)

TGF-beta 1 genski polimorfizam



- Codon (10) Pro - poremećen α -helix, niža produkcija
- Codon (25) Arg - dobra obrada, VIŠA PRODUKCIJA
- Codon (10) Leu - α -helix, viša produkcija
- Codon (25) Pro - loša obrada, NIŽA PRODUKCIJA

Awad M *et al*, 1997

CCPA i polimorfizmi gena za citokine

- CCPA (n=24)
- Ostali oblici aspergiloze, najviše alergijski tip (n=15)
- Kontrolna grupa (n=130-660)

CCPA pacijenti su imali genotip koji ukazuje na nisku produkciju IL-10, TGF- β i visoku produkciju IFN- γ

To odgovara slaboj kontroli inflamacije, posebno kod hronično inficiranih bolesnika

Principi tretmana CCPA

- Neophodna je dugotrajna terapija zbog poremećaja urođene imunosti
- Itrakonazol može da se zameni vorikonazolom kod onih koji ne odgovaraju na terapiju
- IFN- γ može da bude koristan u nekim slučajevima

Lečenje hronične kavitarne pulmonalne aspergiloze

| Treatment | No of courses | Stable or improved (%) | Treatment failure / progression | Toxicity |
|---------------------------------------|---------------|------------------------|---------------------------------|----------|
| Itraconazole primary therapy | 17 | 12 (71) | 5 | 3 |
| Voriconazole | 17 | 9/11 (82) | 2 | 12 |
| Amphotericin B IV | 11 | 9 (82) | 2 | 7 |
| IFN gamma with itraconazole | 3 | 3 | 0 | 3 |
| Itraconazole maintenance after AmB IV | 6 | 6 | 0 | 0 |

Dugotrajna primena vorikonazola



fotosenzitivnost

Vorikonazol

- CYP2C19 genotip
- Rasa
- Pol i starost pacijenta
- Deca (2 - < 12 godina)
- Telesna težina
- Poremećena funkcija jetre i bubrega
- Interakcije lekova

Vorikonazol – interakcije lekova

| Concomitant medication | Con. med. dose adjustment | Monitoring |
|---|----------------------------------|----------------------------------|
| Cyclosporine* | Halve dose | Cyclosporine blood concentration |
| Tacrolimus* | Reduce dose to one third | Tacrolimus blood concentration |
| Warfarin* | As needed | Prothrombin time |
| Sulfonylureas | As needed | Glucose |
| Omeprazole* | Halve dose | None |
| Benzodiazepines, statins, vinca alkaloids | As needed | Clinical effects, toxicity |

