

Корытина Г.Ф.^{1,2}, Азнабаева Ю.Г.², Ахмадишина Л.З.¹,
Кочетова О.В.¹, Хуснутдинова Н.Н.¹, Загидуллин Ш.З.²,
Викторова Т. В.²*

АНАЛИЗ ВОВЛЕЧЕННОСТИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ, ХЕМОКИНОВ, NFKB- И NRF2/KEAP – СИГНАЛИНГА В РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

*¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное
подразделение Федерального государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского федерального исследовательского
центра Российской академии наук, г. Уфа, Российская Федерация;*

*²Башкирский государственный медицинский университет,
г. Уфа, Российская Федерация.*

**e-mail: guly_kory@mail.ru*

Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – это многофакторное хроническое воспалительное заболевание респираторной системы [1]. Для ХОБЛ свойственно развитие системных эффектов, приводящих к развитию тяжелых осложнений, дополнительно отягчающих течение болезни [1,2]. Одной из причин трудностей в идентификации маркеров ХОБЛ является фенотипическая гетерогенность [3]. Определенная доля пациентов с ХОБЛ более предрасположена к развитию частых обострений заболевания, которые являются причиной резкого прогрессирования обструкции дыхательных путей и неблагоприятного исхода. Большое внимание исследователей в настоящее время уделяется эффективному выявлению пациентов с повышенным риском обострений – «frequent exacerbator» COPD phenotype [2-4]. Роль воспаления в патогенезе ХОБЛ достаточно широко изучена, но только в последнее время исследователи обратили внимание на системный характер ХОБЛ, и возможную связь хронического системного воспаления и развития обострений при ХОБЛ [3,4]. Исследований, посвященных ассоциации генетических маркеров с развитием фенотипа с частыми обострениями, пока

недостаточно, но клинически показано, что данный фенотип ХОБЛ является гомогенной стабильной группой, что указывает на определенную генетическую предрасположенность [3].

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов, хемокинов, NFκB- и NRF2/KEAP-путей сигнальной трансдукции и их сочетаний с ХОБЛ, анализе вклада исследованных локусов генов-кандидатов в развитие фенотипа с частыми обострениями и вариабельность показателей, характеризующих прогрессирование обструкции дыхательных путей, интенсивность и стаж курения.

Материалы и методы

Дизайн исследования – кандидатное исследование по принципу случай-контроль. Использовали образцы ДНК неродственных индивидов, татар по этнической принадлежности, проживающих на территории Республики Башкортостан. В группах больных ХОБЛ (N=601) и контроля (N=617) методом ПЦР в реальном времени (TaqManSNP discrimination assays, Applied-Biosystems, FosterCity, CA) на приборе BioRadCFX96™ (Bio-RadLaboratories, Inc, USA) проведен анализ комплекса 37 полиморфных локусов генов хемокинов, цитокинов, NFκB- и NRF2/KEAP-путей сигнальной трансдукции: *NFKB1* (*rs28362491*), *CCL2* (*rs1024611*), *IL12B* (*rs3212227*, *rs3212217*), *IL12A* (*rs568408*, *rs2243115*), *IL12RB1* (*rs401502*, *rs11575934*), *IL12RB2* (*rs3790565*, *rs3762317*), *IL13* (*rs1800925*, *rs20541*), *CCR2* (*rs1799864*), *CCR6* (*rs3093024*), *CCL20* (*rs6749704*), *CCL8* (*rs3138035*), *CRP* (*rs1205*), *CRP* (*rs279451*), *CX3CL1* (*rs170364*), *CX3CR1* (*rs3732378*), *CXCL8* (*rs4073*), *CXCR2* (*rs1126579*, *rs4674258*, *rs2230054*), *CXCR1* (*rs2234671*, *rs16858811*), *CCL23* (*rs854655*), *TNFA* (*rs1800629*), *LTA* (*rs909253*), *TNFRSF1A* (*rs767455*), *TNFRSF1B* (*rs1061624*, *rs1061622*), *IL20* (*rs2981573*), *IL19* (*rs2243193*), *KEAP1* (*rs1048290*), *NFE2L2* (*rs35652124*), *HSPA1A* (*rs1008438*). Статистическую обработку данных проводили, используя пакеты прикладных программ Statistica v.6.0 (StatSoft Inc., USA) и PLINKv. 1.07. Поиск сочетаний аллелей/генотипов, ассоциированных с ХОБЛ, осуществлялся в программе APSampler 3.6.1.

Результаты

Статистически значимые различия в распределении частот генотипов и/или аллелей между группами больных ХОБЛ и здоровых индивидов были выявлены по следующим полиморфным локусам: *TNFA* (rs1800629), *CXCL8* (rs4073), *CCL2* (rs1024611), *CCL20* (rs6749704), *CCR6* (rs3093024), *CCL8* (rs3138035), *CX3CL1* (rs170364), *CXCR2* (rs2230054), *IL19* (rs2243193), *KEAP1* (rs1048290), *HSPA1A* (rs1008438). Выявлены специфические генетические маркеры развития фенотипа с частыми обострениями, которые являются модификаторами прогрессирования ХОБЛ: *TNFA* (rs1800629), *CXCR2* (rs2230054), *KEAP1* (rs1048290), *HSPA1A* (rs1008438), *TNFRSF1B* (rs1061622), *CCR6* (rs3093024). Установлена ассоциация генотипов генов *NFE2L2* (rs35652124), *TNFRSF1B* (rs1061624), *TNFRSF1A* (rs767455), *CCL23* (rs854655), *CXCR2* (rs4674258), *NFKB1* (rs28362491), *CCL20* (rs6749704), *CX3CR1* (rs3732378) с показателями функции внешнего дыхания, отражающими прогрессирование обструкции дыхательных путей при ХОБЛ. В результате проведенного исследования показано, что риск развития ХОБЛ связан с несколькими ключевыми генами: *NFKB1*, *KEAP1*, *CCR6*, *CCL8*, *CXCL8*, *IL19*, *CXCR2*, *NFE2L2*, проявление эффектов полиморфных вариантов которых при развитии ХОБЛ существенно зависит от статуса курения. Увеличение индекса курения (показателя, характеризующего интенсивность и стаж курения) установлено у индивидов с различными аллельными вариантами генов: *NFKB1* (rs28362491), *CXCL8* (rs4073), *TNFRSF1A* (rs767455), *CX3CL1* (rs170364), *CCL8* (rs3138035), *CCR6* (rs3093024), *NFE2L2* (rs35652124), *KEAP1* (rs1048290), *HSPA1A* (rs1008438), *CXCR2* (rs4674258), *IL19* (rs2243193), *IL20* (rs2981573).

С использованием мультилокусного анализа ассоциаций нами были выявлены информативные сочетания аллелей/генотипов, связанных с развитием ХОБЛ. Комбинации включали ряд полиморфных вариантов генов хемокинов, цитокинов, NFκB- и NRF2/KEAP-путей сигнальной трансдукции, которые не были выявлены при индивидуальном анализе. Установлено, что аллель *CCL8rs3138035**C присутствует в большинстве комбинаций, ассоциированных с повышенным риском ХОБЛ. Вторым по значимо-

сти компонентом всех сочетаний был аллель *KEAP1rs1048290*G*, а также аллель *CCR2rs1799864*G*. Показано, что наиболее информативные комбинации включали компоненты взаимосвязанных NRF2/KEAP-, NFκB-сигнальных путей и хемокинового сигналинга:

1. *CCR2rs1799864*G+CCL8rs3138035*C+IL19rs2243193*G* (OR=2.65, $P_{FDR}=2.10e-06$)
2. *KEAP1rs1048290*G+TNFRSF1Brs1061622*T+CCR2rs1799864*G+CCL8rs3138035*C* (OR=2.53, $P_{FDR}=2.53e-06$)
3. *NFE2L2rs35652124*T+CCL8rs3138035*C+CCR6rs3093024*G* (OR=2.18, $P_{FDR}=2.31e-05$)

Заключение

В результате проведенного нами анализа ассоциаций полиморфных локусов генов, осуществляющих контроль экспрессии генов, кодирующих белки, вовлеченные в реализацию реакций иммунного ответа и воспаления с ХОБЛ, впервые получены данные по вкладу полиморфных локусов исследованных генов в развитие данного заболевания. Результаты представляют интерес для понимания молекулярных механизмов развития ХОБЛ и фенотипической гетерогенности заболевания.

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (№18-015-00050).

Список литературы

1. From the Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2017. Available from: <http://goldcopd.org>.
2. Shaw JG, Vaughan A, Dent AG, et al. Biomarkers of progression of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Thorac Dis.* 2014; 6 (11):1532-1547.
3. Geerdink JX, Simons SO, Pike R, et al. Differences in systemic adaptive immunity contribute to the 'frequent exacerbator' COPD phenotype. *Respir Res.* 2016;17(1):140.
4. Santibáñez M, Garrastazu R, Ruiz-Nuñez M, et al. Predictors of Hospitalized Exacerbations and Mortality in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *PLoS One.* 2016; 11 (6):e0158727.