

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев, А. А. – Г. Особенности aberrаций роговицы при птеригиуме: дисс. ... канд. мед. наук. М., 2008. – 24 с.
2. Балашевич, Л.И. Аберрометрия как метод оценки интраокулярной коррекции / Л.И. Балашевич, А.Б. Качанов, Ю.В. Тахтаев // Офтальмохирургия. – 2007. – № 4. – С. 10-14.
3. Балашевич, Л.И. Оптические aberrации глаза: диагностика и коррекция // Окулист. – 2001. – Т. 22. – № 6. – С. 12-14.
4. Корниловский, И.М. Патогенетическая направленность различных методов коррекции aberrаций оптической системы глаза. / И.М. Корниловский // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2010. – № 2. – С. 21-27.
5. Bellucci R., Morselli S., Piers P. Comparison of wavefront aberrations and optical quality of eyes implanted with five different intraocular lenses // J. Refract. Surg. 2004. – Vol. 20. – No 4. – P. 297-306.
6. Charman W.N. Can we measure wave aberration in patients with diffractive IOLs? / W.N. Charman, R. Montes-Mico, H. Radhakrishnan // J. Cataract Refract. Surg. 2007. – Vol. 33. – No. 11. – P. 1997-1999.
7. Chen W. R. Comparison of higher-order aberrations and contrast sensitivity between Tecnis Z9001 and CeeOn 911A intraocular lenses: a prospective randomized study. / W. R. Chen, H.H. Ye, Y.Y. Qian, W.H. Yang, Z.H. Lin // ChinMedJ (Engl). 2006. – No 5. – Vol. 119. – P. 1779-1784.
8. Kuroda T. T. Wavefront analysis in eyes with nuclear or cortical cataract / T. T. Kuroda, T. T. Fujikado, N. No. Maeda, T. T. Oshika, Y. Y. Hirohara, T. T. Mhashi // Am J Ophthalmol 2002. – Vol. 134. – No. 1. – P. 1-9
9. Xiong Y. Investigation of wavefront aberrations for patients with cataract surgery. / Y. Xiong, Y. Lu, X. Qu, F. Xue, R. Chu, J.C. He // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2002. – Vol. 43. – No. 12. – P. 387
10. Hida W. T. Comparison between OPD-Scan results and visual outcomes of monofocal and multifocal intraocular lenses. / W. T. Hida, A. F. Pimenta Motta, N. K. Junior, E. Alves; M. Tadeu, L. N. Cordeiro // Arq. Bras. Oftalmol. 2009. – Vol. 72. – No. 4. – P.

УДК 575.599.9

© Т.В. Викторова, Г.Ф. Корытина, О.С. Целоусова, Л.З. Ахмадишина, Е.В. Викторова, Ш.З. Загидуллин, 2012

Т.В. Викторова^{1,2}, Г.Ф. Корытина², О.С. Целоусова^{1,2},
Л.З. Ахмадишина², Е.В. Викторова³, Ш.З. Загидуллин¹

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

¹ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздравоохранения России, г. Уфа;

²Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа;

³George-August University of Goettingen, Goettingen, Germany

С целью оценки взаимосвязи полиморфных вариантов генов протеолиза с развитием хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) проведен анализ распределения полиморфных вариантов генов матричных металлопротеаз MMP1 (-1607G>GG и -519A>G), MMP2 (-735C>T), MMP3 (-1171 5A>6A), MMP9 (-1562C>T и 2660A>G), MMP12 (-82A>G) и дисинтегриновой металлопротеиназы ADAM33 (12418A>G и 13491C>G) у больных (ХОБЛ, 391 чел.) и здоровых индивидов (контроль, 514 чел.). Установлена статистически значимая ассоциация полиморфных локусов генов MMP3 (-1171 5A>6A), MMP9 (-1562C>T, 2660A>G) и ADAM33 (12418A>G, 13491 C>G) с развитием и прогрессированием ХОБЛ, статусом курения и формированием эмфиземы легких у больных.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, ассоциация, матричные металлопротеиназы, дисинтегриновая металлопротеиназа.

T.V. Viktorova, G.F. Korytina, O.S. Tselousova,
L.Z. Akhmadishina, Ye.V. Viktorova, Sh.Z. Zagidullin

ANALYSIS OF PROTEOLYSIS GENE POLYMORPHIC LOCI IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE PATIENTS

In order to evaluate the interrelation between proteolysis polymorphic gene variants and the development of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), we studied the distribution of polymorphic variants of matrix metalloproteinase genes MMP1 (-1607G>GG and -519A>G), MMP2 (-735C>T), MMP3 (-1171 5A>6A), MMP9 (-1562C>T and 2660A>G), MMP12 (-82A>G) and disintegrin metalloproteinase 33 gene ADAM33 (12418A>G and 13491 C>G) in chronic obstructive pulmonary disease patients (COPD, N=391) and healthy individuals (control group, N=514). We observed a statistically significant association of analyzed polymorphic loci MMP3 (-1171 5A>6A), MMP9 (-1562C>T, 2660A>G), and ADAM33 (12418A>G, 13491 C>G) with COPD development and aggravation, smoking status and emphysema risk.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, association, matrix metalloproteinases, disintegrin metalloproteinase.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенное многофакторное хроническое воспалительное заболевание респираторной системы с преимущественным поражением дистальных отделов дыхательных путей и легочной паренхимы [1]. Для ХОБЛ характерно развитие эмфиземы и частично обратимой бронхиальной обструкции с последующим прогрессированием и нарастанием явлений дыхательной недостаточности [1, 6]. Одним из ключевых звеньев

патогенеза ХОБЛ является хроническое воспаление.

Современные перспективы в изучении природы ХОБЛ, как и многих других многофакторных заболеваний человека, связаны с выявлением особенностей генетического полиморфизма, создающих предпосылки для формирования патологического фенотипа [5]. Среди генетических систем, вовлеченных в формирование ХОБЛ, первостепенное значение имеют гены систем протеолиза и анти-

протеолиза, ферменты биотрансформации ксенобиотиков, антиоксидантной защиты и медиаторы воспаления [5]. Ранее нами были опубликованы выборочные данные, посвященные изучению ассоциации полиморфных вариантов этих генов с ХОБЛ [3, 4], а также с некоторыми другими многофакторными заболеваниями [2]. В настоящем исследовании представлены результаты изучения у больных ХОБЛ генетического полиморфизма ферментов системы протеолиза.

Целью исследования является оценка взаимосвязи полиморфных вариантов генов протеолиза (матриксных металлопротеиназ MMP1, MMP2, MMP3, MMP9, MMP12 и дисинтегриновой металлопротеиназы ADAM33) с развитием хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Башкортостан.

Материал и методы

В работе использовались образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови у 905 неродственных индивидов, проживающих в Республике Башкортостан. Выборка больных ХОБЛ включала 391 человек (312 мужчин (79,79%) и 79 женщин (20,21%)). Диагноз ХОБЛ устанавливался согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) и с учетом рекомендаций GOLD (2010 г.) [7]. Средний возраст больных составил $61,3 \pm 12,7$ года. По этнической принадлежности больные ХОБЛ распределились следующим образом: русские – 208 чел. (53,2%), татары – 183 чел. (46,80%). При проведении сравнительного анализа внутри общей выборки больных ХОБЛ выделяли подгруппы в зависимости от статуса курения, возраста манифестации заболевания, стадии заболевания, наличия или отсутствия эмфиземы легких, тяжести течения ХОБЛ и наличия осложнений. В контрольную группу вошли 514 практически здоровых индивидов – жителей Республики Башкортостан – без хронической патологии дыхательной системы, отобранных с учетом возраста, пола, этнической принадлежности и статуса курения. От всех участников исследования было получено информированное добровольное согласие на использование биологического материала в планируемых исследованиях.

ДНК выделяли из 4 мл периферической венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Полиморфные локусы генов MMP1 (-1607G>GG) и (-519A>G), MMP2 (-735C>T), MMP3(-11715A>6A), MMP9 (-1562C>T) и (2660A>G), MMP12 (-82A>G), ADAM33 (12418A>G) и

(13491C>G) анализировали методом полимеразной цепной реакции. Олигонуклеотидные праймеры и методы идентификации полиморфных аллелей изученных локусов взяты из литературных источников.

Оценку соответствия распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга (χ^2), анализ ассоциации с использованием аллельного теста и расчета показателя отношения шансов (OR) для каждого анализируемого локуса, оценку статистической значимости различий между группами по частотам аллелей и генотипов (тест χ^2 на гомогенность выборок) проводили в программах PLINKv. 1,07 [11] и SNPstat [13]. Различия в частотах гаплотипов между группами рассчитывали в программе Haploview 4,2 [9]. Для выявления ассоциации полиморфных локусов и гаплотипов в различных моделях с учетом количественных и бинарных признаков (пол, возраст, возраст манифестации заболевания, этническая принадлежность, статус и индекс курения), вводимых в уравнение регрессии в качестве независимых переменных, применялись метод логистической регрессии и регрессионный анализ с использованием пакетов программ PLINKv. 1,07 и SNPStat.

Результаты и обсуждение

Во всех изученных выборках проведена проверка соответствия распределения частот генотипов полиморфных локусов равновесию Харди–Вайнберга. В последующем из анализа ассоциации с развитием ХОБЛ был исключен локус MMP1 -519A>G, для которого выявлены значительные отклонения от равновесия Харди–Вайнберга ($p=1,88 \times 10^{-8}$).

Результаты анализа ассоциации, основанные на сравнении частот аллелей в группах больных и здоровых индивидов, представлены в таблице. Для локусов MMP3 -1171 5A>6A и ADAM33 12418A>G выявлена статистически значимая ассоциация с развитием ХОБЛ. Показано, что генетическим маркером, ассоциированным с повышенным риском развития ХОБЛ, является генотип 6A6A (OR=2,490). Проведенный анализ генотипов в дифференцированных по этнической принадлежности выборках выявил ассоциацию генотипа 6A6A локуса MMP3 -1171 5A>6A с развитием ХОБЛ как у русских ($P=0,0019$; OR=3,260), так и у татар ($P=0,0045$; OR=3,060). Анализ данного локуса с учетом гендерной градации обследованных выявил ассоциацию локуса MMP3 -1171 5A>6A с ХОБЛ как у мужчин ($p=0,001$), так и у женщин ($p=0,004$). Регрессионный анализ с уче-

том статуса курения показал ассоциацию генотипа 6A6A локуса MMP3 -1171 5A>6A с

развитием ХОБЛ у курильщиков ($p=0,0008$).

Таблица

Частота полиморфных вариантов генов системы протеолиза у больных ХОБЛ и в контроле						
Полиморфный локус (reference sequence, rs)	Аллели: редкий частый	ХОБЛ абс / %	Контроль абс / %	p	OR	CI95%
MMP1 -1607 G>GG(rs1799750)	GG	332/42.46	304/39.58	0.2504	1.126	0.919 - 1.379
	G	450/57.54	464/60.42			
MMP3 -1171 5A>6A(rs35068180)	5A	22/2.81	46/6.48	0.0007	0.417	0.248 - 0.701
	6A	760/97.19	664/93.52			
MMP12 -82A>G(rs2276109)	G	82/10.49	85/9.75	0.6180	1.085	0.787 - 1.494
	A	700/89.51	78/90.25			
MMP2 -735 C>T(rs2285053)	T	74/9.46	63/10.23	0.6332	0.917	0.644 - 1.307
	C	708/90.54	553/89.77			
MMP9 -1562 C>T(rs3918242)	T	97/12.40	110/12.67	0.8693	0.975	0.728 - 1.307
	C	685/87.60	758/87.33			
MMP9 2660A>G(rs17576)	G	250/31.97	192/34.29	0.3733	0.901	0.715 - 1.134
	A	532/68.03	368/65.71			
ADAM33 13491 C>G(rs2787094)	C	281/35.93	207/36.44	0.8473	0.978	0.781 - 1.225
	G	501/64.07	361/63.56			
ADAM33 12418 A>G(rs2280091)	G	112/14.32	108/18.69	0.0307	0.727	0.544 - 0.971
	A	670/85.68	470/81.31			
TIMP3 -1296T>C(rs9619311)	C	180/23.02	157/26.79	0.1089	0.817	0.638 - 1.046
	T	602/76.98	429/73.21			

Примечание. Серым цветом выделены ячейки со статистически значимыми различиями между сравниваемыми группами.

Ранее, в 2006 г., в работе Suc соавт. показан повышенный риск развития рака легкого у некурящих носителей генотипа 6A6A [14]. Эти результаты согласуются с полученными нами данными, указывающими, что риск развития ХОБЛ связан с генотипом 6A6A и аллелем 6A локуса MMP3 -1171 5A>6A. Вместе с тем Schirmer с соавт. (2009) при изучении ассоциации полиморфного локуса MMP3 -1171 5A>6A с развитием ХОБЛ у европеоидов из Бразилии не обнаружили существенных различий [12].

При анализе полиморфного локуса 12418A>G гена ADAM33 выявлено повышение доли гетерозиготных носителей среди здоровых индивидов (29,76% против 21,99% в группе больных, $p=0,027$; OR=0,660). Вместе с тем показано возрастание риска развития ХОБЛ у гомозигот по частому аллелю (генотип AA; OR=1,490; $p=0,019$). В дифференцированных по этнической принадлежности выборках генотип AA локуса ADAM33 12418A>G ассоциировал с ХОБЛ только у татар ($P=0,032$; OR=1,610). С учетом половой принадлежности обследованных показано, что локус ADAM33 12418A>G был связан с развитием ХОБЛ только у мужчин ($p=0,021$). Регрессионный анализ с учетом статуса курения показал ассоциацию генотипа AA локуса ADAM33 12418A>G с развитием ХОБЛ у курильщиков ($p(\text{smoke})=0,019$). Согласно литературным данным ассоциация полиморфных локусов гена ADAM33 с ХОБЛ и бронхиальной астмой была выявлена в исследованиях ряда авторов [8, 10], что подтверждается полученными нами результатами.

Ввиду того, что полиморфные локусы генов MMP9 и ADAM33 и гены MMP1, MMP3 и MMP12 тесно сцеплены, был проведен анализ ассоциации гаплотипов с развитием ХОБЛ. По распределению частот гаплотипов гена MMP9 группа больных и группа здоровых индивидов не отличались. При анализе гена ADAM33 статистически значимые различия между больными ХОБЛ и лицами контрольной группы были получены для гаплотипа G-G ($p=0,0008$; OR=0,48; CI95% 0,32-0,74), который был определен как маркер устойчивости к заболеванию. В наиболее информативную модель для данного локуса вошли такие переменные, как возраст, этническая принадлежность и индекс курения. При анализе частот гаплотипов кластера генов MMP1, MMP3 и MMP12 выявлены различия между группой ХОБЛ и контролем ($P=0,03$). Показано, что гаплотип GG-5A-A является маркером устойчивости к ХОБЛ ($p=0,022$; OR=0,41; CI95% 0.19-0.88). Различия между выборками сохранялись при учете таких факторов, как возраст, этническая принадлежность и статус курения.

Различий между группами больных в зависимости от возраста манифестации заболевания выявлено не было. Показано увеличение частоты редкого аллеля T локуса MMP9 -1562C>T до 13,85% у больных с тяжелой ХОБЛ против 7,89% у больных с заболеванием средней тяжести ($p=0,041$; OR=1,876). Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов изученных локусов с наличием или отсутствием эмфиземы легких не выявил различий между группами больных. Однако включение в уравнение регрессии поочередно и в

комбинации таких независимых переменных, как возраст манифестации ХОБЛ, возраст больного, статус курения, половая и этническая принадлежность, позволило выявить ассоциацию локуса ADAM33 13491C>G ($p=0,043$) и генотипа GG ($OR=1.740$) с эмфиземой легких. Наибольшей информативностью характеризовались модели, учитывающие возраст, пол и статус курения обследованных.

Выводы

1. Для полиморфных локусов генов MMP1 (-1607 G>GG), MMP2 (-735C>T), MMP12 (-82 A>G) ассоциации с развитием ХОБЛ, тяжестью, возрастом манифестации заболевания и

наличием эмфиземы легких выявлено не было.

2. Установлена ассоциация полиморфных локусов генов MMP3 (-1171 5A>6A), MMP9 (-1562C>T, 2660A>G), ADAM33 (12418A>G, 13491 C>G), TIMP3 (-1296T>C) с развитием и прогрессированием ХОБЛ, статусом курения и формированием эмфиземы легких у больных.

Работа получила частичную финансовую поддержку Российского фонда фундаментальных исследований (08-04-97007-р_Поволжье_а).

Сведения об авторах статьи:

Викторова Татьяна Викторовна, д.м.н., проф., зав. каф. биологии, ГБОУ ВПО БГМУ

Адрес: 450000, г.Уфа, ул. Ленина, 3 e-mail: t_vict@mail.ru

Корытина Гульназ Фаритовна, к.б.н., с.н.с. лаборатории физиологической генетики Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН

Целоусова Ольга Сергеевна, к.б.н., ассистент каф. биологии ГБОУ ВПО БГМУ

Ахмадишина Ляйсан Зиннуровна, к.б.н., с.н.с. лаборатории физиологической генетики, Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН

Викторова Елена Витальевна, аспирант отдела генетической эпидемиологии,

Department of genetic epidemiology, George-August University of Goettingen, Germany

Загидуллин Шамиль Зарифович, д.м.н., проф., зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с курсом физиотерапии,

ГБОУ ВПО БГМУ

ЛИТЕРАТУРА

1. Азнабаева, Ю.Г. Заболеваемость хроническими бронхолегочными болезнями взрослого населения Республики Башкортостан/Ю.Г. Азнабаева, Ш.З.Загидуллин, Р.З.Тимашева [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. – Т. 5, №4. – С. 10-15.
2. Викторова, Т.В. Анализ ассоциации полиморфных маркеров генов цитокинов P450 (CYP1A1 и CYP1A2) с поверхностным и инвазивным раком мочевого пузыря /Т.В. Викторова, А.А. Измайлов, С.М. Измайлова [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. – Т. 5, №2. – С. 25-29.
3. Корытина, Г.Ф. Частоты полиморфных вариантов генов CYP1B1 и CYP2F1 в трех этнических группах жителей Республики Башкортостан и у больных хронической обструктивной болезнью легких/Г.Ф. Корытина, Л.З. Ахмадишина, Т.В. Викторова // Молекулярная биология. – 2010. – Т. 44, № 1. – С. 33-41.
4. Корытина, Г.Ф. Ассоциация полиморфных маркеров генов семейства цитохрома P450 и ферментов антиоксидантной защиты с развитием хронических заболеваний респираторной системы у детей/Г.Ф. Корытина, Л.З. Ахмадишина, Л.И. Бабенкова, Т.В. Викторова // Медицинская генетика. – 2007. – Т.6, №.8. – С.42-48.
5. Пузырев, В.П. Генетический взгляд на феномен сочетанных заболеваний человека/ В.П. Пузырев, М.Б.Фрейдин // Acta Naturae. – 2009, №3. – Р. 57-63.
6. Шмелев, Е. И. Хроническая обструктивная болезнь легких / под ред. А.Г. Чучалина // Пульмонология: национальное руководство – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – С. 303-360.
7. GOLD Workshop Report: Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. Updated 2010. – (www.goldcopd.com.)
8. Gosman MM, Boezen HM, van Diemen CC et al. A disintegrin and metalloprotease 33 and chronic obstructive pulmonary disease pathophysiology // Thorax. – 2007; 62(3); 242-7.
9. Haploview 4.2. – science/programs/medical-and-population-genetics/ haploview/ (http://www.broadinstitute.org/scientific-community/)
10. Pabst S., Pizarro Touron C. ADAM33 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease // Eur. J. Med. Res. – 2009; 14(4); 182-6.
11. PLINK v. 1.0 (http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/)
12. Schirmer H, Basso da Silva L., Teixeira P.J., Moreira J.S. et al. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms: lack of association with chronic obstructive pulmonary disease in a Brazilian population // Genet Mol Res. – 2009; 8(3); 1028-34.
13. SNPStats (http://bioinfo.iconologia.net/SNPstats_web)
14. Su L., Zhou W., Asomaning K. et al. Genotypes and haplotypes of matrix metalloproteinase 1, 3 and 12 genes and the risk of lung cancer // Carcinogenesis. – 2006; 27(5); 1024-9.