

На правах рукописи

**СЕИТОВА**

Гульнара Наримановна

**АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ  
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ С  
КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ БОЛЕЗНИ  
У ТАТАР И РУССКИХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

03.00.15 - генетика

14.00.43 – пульмонология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Томск – 2004**

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ и ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН, г. Томск

Научные руководители: академик РАМН,  
доктор медицинских наук, профессор  
**Пузырев Валерий Павлович**

кандидат медицинских наук, доцент  
**Букреева Екатерина Борисовна**

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор  
**Назаренко Людмила Павловна**

доктор медицинских наук, профессор  
**Зарипова Татьяна Николаевна**

Ведущая организация: Институт цитологии и генетики  
СО РАН, г. Новосибирск

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2004 года в \_\_\_\_ час. \_\_\_\_ мин. на заседании диссертационного совета К 001.045.01 при ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН по адресу: 634050 г. Томск, Набережная реки Ушайки, д. 10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН, г. Томск

Автореферат разослан «\_\_» «\_\_\_\_\_» 2004 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук

А.Н. Кучер

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) - широко распространенное заболевание бронхо-легочной системы, которое приводит к существенному снижению качества жизни, обуславливает раннюю инвалидизацию и высокую смертность больных (Чучалин, 2000; GOLD, 2003). Несмотря на значимость проблемы, до сих пор нет адекватных методов диагностики ХОБЛ, в результате чего активная терапия начинается на поздней стадии развития заболевания, когда имеющиеся в арсенале средства лечения уже не могут остановить прогрессирование болезни (ХОБЛ. Федеральная программа, 1999; Чучалин, 2000). Поэтому разработка современных доступных и достоверных методов, позволяющих диагностировать заболевание на раннем этапе развития, формировать группы риска с целью проведения первичной профилактики развития ХОБЛ, а также прогнозировать особенности течения заболевания является одной из актуальных проблем современной пульмонологии.

Перспективными для этих целей являются исследования, посвященные изучению наследственной компоненты ХОБЛ, которые наиболее интенсивно стали проводиться с начала 21 века (Викторова с соавт., 2003; Ивчик с соавт., 2001; Корытина с соавт., 2004; Ходжаянц, 2004; Янбаева с соавт., 2004; Янчина с соавт., 2004; Joos et al., 2002; Lomas et al., 2001; Sakao et al., 2002; Sanford et al., 2002; Silverman et al., 2002). Однако, до сих пор единственным доказанным генетическим фактором риска развития болезни является тяжелая врожденная  $\alpha$ 1-антитрипсиновая недостаточность (ААТН) - аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутацией в гене *PI*, частота которого невелика и составляет 1-2% от общего числа больных ХОБЛ (Гембицкая, 1976; Пузырев с соавт., 2003; Carrell et al., 1996; GOLD, 2003). Исследования других генов-кандидатов ХОБЛ на сегодняшний день только начаты, немногочисленны, а их результаты противоречивы.

Среди большого числа генов, которые могут принимать участие в формировании предрасположенности к развитию ХОБЛ, наше внимание привлекли гены фактора некроза опухолей-альфа (*TNF*), интерлейкина-8 (*IL8*), нейрональной и эндотелиальной синтаз оксида азота (*NOS1* и *NOS3* соответственно) и ген макрофагального протеина 1, ассоциированного с естественной резистентностью (*NRAMP1*). Роль белковых продуктов этих генов в патогенезе ХОБЛ очевидна. Известно, что ключевым моментом формирования ХОБЛ является хроническое воспаление, в развитии которого существенную роль играют такие медиаторы, как интерлейкин-8 (ИЛ8), фактор некроза опухолей-альфа (ФНО- $\alpha$ ), являющиеся мощными факторами адгезии и хемотаксиса нейтрофилов (Потапнев, 1995; Sibille et al., 1993), а также эндогенный оксид азота (NO), участвующий в регуляции тонуса бронхиального дерева (Невзорова с соавт., 1998; Kharitonov et al., 2001; Ricciardolo, 2003). Кроме того, учитывая, что одним из этиологических факторов развития и обострения ХОБЛ является инфекция, обоснованным представляется изучение гена *NRAMP1*, который участвует в определении чувствительности или невосприимчивости к некоторым инфекционным агентам (Govoni et al., 1998).

**Цель исследования:** Оценить популяционную распространенность и взаимосвязь аллельных вариантов генов-кандидатов подверженности к бронхо-легочной патологии (*TNF*, *IL8*, *NOS1*, *NOS3* и *NRAMP1*) с клиническими проявлениями хро-

нической обструктивной болезни легких у сибирских татар и русских, проживающих на территории Томской области.

**Задачи исследования:**

1. Изучить изменчивость генов фактора некроза опухолей-альфа (*TNF*), интерлейкина-8 (*IL8*), гена макрофагального протеина, ассоциированного с естественной резистентностью (*NRAMP1*) и группы генов конститутивных синтаз оксида азота (*NOS1* и *NOS3*).
2. Провести анализ ассоциаций аллельных вариантов, включенных в исследование генов, с хронической обструктивной болезнью легких и ее клиническими проявлениями.
3. Оценить взаимосвязь аллельных вариантов генов *TNF*, *IL8*, *NOS1*, *NOS3* и *NRAMP1* с количественными признаками, патогенетически значимыми для хронической обструктивной болезни легких.

**Научная новизна.** Впервые проведено исследование генетической изменчивости генов *TNF*, *IL8*, *NOS1*, *NOS3* и *NRAMP1* у сибирских татар и гена *IL8* у русских; изучена вовлеченность полиморфизмов генов *NOS1*, *IL8* и *NRAMP1* в формирование предрасположенности к ХОБЛ; проведено исследование взаимосвязи полиморфных вариантов генов *TNF*, *IL8*, *NOS1*, *NOS3* и *NRAMP1* с качественными и количественными признаками, патогенетически значимыми в развитии заболевания. Установлены межэтнические различия в предрасположенности к ХОБЛ и клинических особенностях течения заболевания. Показана связь генов *TNF* (полиморфизм -308G/A), *NOS1* (С/Т полиморфизм) и *NOS3* (полиморфизмы VNTR, 774С/Т, -691С/Т и 894G/Т) с уровнем активности системы протеиназ; генов *NRAMP1* (полиморфизмы D543N и 469+14G/С) и *NOS3* (полиморфизмы VNTR и 894G/Т) – с активностью ингибиторов протеиназ; гена *TNF* (полиморфизм -308G/A) – с уровнем ФНО-α.

**Практическая значимость работы.** Сведения о вкладе наследственности в формирование ХОБЛ и описание структуры наследственной компоненты в терминах конкретных генов, обнаруженные взаимосвязи аллельных вариантов генов, участвующих в регуляции систем протеиназ, их ингибиторов и провоспалительных цитокинов, могут быть использованы в создании исследовательских и диагностических панелей маркеров (биочипов). Полученные молекулярно-генетические данные могут быть учтены при разработке различных профилактических программ не только на популяционном уровне, но и стать основой индивидуализированной профилактики и лечения ХОБЛ. Результаты исследования широко используются в педагогическом процессе у студентов-медиков ГОУВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ и в последипломном образовании врачей для иллюстрации достижений геномной медицины в понимании роли наследственности в возникновении и развитии широко распространенных заболеваний человека.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. В семьях пробандов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, как русской, так и татарской национальностей, по сравнению с семьями контрольных выборок имеет место накопление случаев хронического бронхита.
2. Сибирские татары и русские, проживающие на территории Томской области, отличаются по частотам аллельных вариантов генов синтаз оксида азота (*NOS1*), ин-

терлейкинов (*IL8*) и макрофагального белка, ассоциированного с естественной резистентностью (*NRAMP1*) от других изученных популяций мирового народонаселения.

3. В структуре генетической компоненты предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких и клинических особенностей течения заболевания имеется ряд межэтнических особенностей. У русских развитие хронической обструктивной болезни легких ассоциируется с геном *NOS3* (полиморфизм 894G/T), у сибирских татар – с генами *TNF* (полиморфизм -308G/A) и *NOS3* (VNTR полиморфизм). Возраст начала заболевания и степень обструкции дыхательных путей связаны с аллельными вариантами гена *NRAMP1* (полиморфизмы 1465-85G/A и D543N соответственно) у представителей обеих национальностей; C/T полиморфизм гена *NOS1* связан с возрастом начала болезни только у татар.

4. Связь изученных полиморфных вариантов генов-кандидатов хронической обструктивной болезни легких с уровнем активности некоторых биохимических и иммунологических показателей, патогенетически значимых в формировании заболевания, отличается у русских и татар. У русских уровень ФНО- $\alpha$  ассоциируется с одноименным геном *TNF* (полиморфизм -308G/A); активность протеиназ связана с генами *NOS1* (C/T полиморфизм), *NOS3* (полиморфизмы VNTR, 774C/T, -691C/T) и *TNF* (полиморфизм -308G/A); антипротеиназная активность – с генами *NRAMP1* (полиморфизмы D543N, 469+14G/C) и *NOS3* (полиморфизмы VNTR, 894G/T). У татар ген *NRAMP1* (полиморфизм D543N) ассоциируется с активностью протеиназ, а ген *NOS3* (полиморфизм 894G/T) связан с активностью, как протеиназ, так и их ингибиторов.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на 4-ом Международном конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2003); 13-ом Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Санкт Петербург, 2003); 5-ом Международном конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2004); Межлабораторном научном семинаре в ГУ НИИ медицинской генетике ТНЦ СО РАМН (Томск, 2004); 14-ом ежегодном Европейском респираторном конгрессе (Глазго, Шотландия, 2004). Результаты работы отмечены дипломом 1-ой степени и именной стипендией на 13-ом Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Санкт Петербург, 2003).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 18 работ, из них 4 - в центральной печати.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 164 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав (Обзор литературы, Материал и методы, Результаты и обсуждение), заключения, выводов и списка литературы. Данные проиллюстрированы 54 таблицами и 13 рисунками. Список литературы включает 310 источников, из них 220 зарубежных.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего было обследовано 445 человек русской и татарской национальности, проживающих в Томской области. По результатам обследования были сформированы группы больных хронической обструктивной болезнью легких и группы сравнения, дифференцированные по этнической принадлежности (табл. 1). Обязательным условием включения в группы было информированное согласие исследуемого. Кли-

ническое обследование и диагностику ХОБЛ проводили сотрудники кафедры внутренних болезней педиатрического факультета ГОУВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ (заведующая – д. м. н., профессор Л. И. Волкова). Диагноз у пациентов был поставлен на основании наличия общепринятых критериев ХОБЛ (GOLD, 2003). Условиями для включения в контрольную группу были: отсутствие кашлевого анамнеза; отсутствие в течение предшествующих 3-х месяцев острых респираторных заболеваний; нормальные показатели функции внешнего дыхания по данным спирометрии.

Таблица 1

**Характеристика исследуемых групп**

Выборки	Больные		Контроль	
	русские (72 чел.)	татары (50 чел.)	русские (189 чел.)	татары (134 чел.)
Анамнез				
Средний возраст (лет)	56,4 <sub>+12</sub>	56,3 <sub>+16</sub>	50,0 <sub>+17</sub>	55,1 <sub>+17,5</sub>
Длительность ХОБЛ (лет)	17,2 <sub>+12,4</sub>	23,7 <sub>+13,7</sub>	-	-
Настоящие курильщики	41 (56,9%)	27 (54%)	104 (55,0%)	72 (53,7%)
Бывшие курильщики	6 (8,4%)	4 (8%)	8 (4,2%)	4 (3,0%)
Некурящие	25 (34,7%)	19 (38%)	77 (40,8%)	58 (43,3%)
Имеют проф. вредности	52 (72,2%)	34 (68,0%)	123 (65,0%)	92 (68,7%)

Обследование включало сбор семейного анамнеза и использование различных клиничко-лабораторных методов. Исследование функции внешнего дыхания проводилось в период клинической ремиссии заболевания; данные спирометрии анализировали по следующим показателям: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ<sub>1</sub>), отношение ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ (Индекс Тиффно). Биохимические и иммунологические методы включали определение активности протеиназ (эластазы, трипсиноподобных протеиназ); ингибиторов протеиназ ( $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора,  $\alpha$ 2-макроглобулина, кислото-стабильных ингибиторов); количественное определение ФНО- $\alpha$  и ИЛ8 в сыворотке крови и мокроте в период обострения и клинической ремиссии ХОБЛ (мокрота исследовалась только у больных ХОБЛ). Микробиологическое исследование мокроты (проводилось только у больных русской национальности) включало: бактериологическое исследование с определением концентрации бактерий в 1 мл; определение титров IgG, IgM к *Ch. pneumoniae* и *M. pneumoniae*; определение фрагментов генома этих микроорганизмов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

С помощью молекулярно-генетических методов исследовано 12 полиморфных вариантов 6 генов-кандидатов ХОБЛ: 2 полиморфизма гена  $\alpha$ 1-антитрипсина (*PI*), 4 полиморфизма гена *NOS3*, 3 полиморфизма гена *NRAMP1* и по 1 полиморфизму генов *TNF*, *IL8* и *NOS1*. ДНК выделяли по стандартной неэнзиматической методике из лимфоцитов периферической крови (Маниатис, 1984; Lahiri, 1992). Изучение полиморфных вариантов исследуемых генов проводили с помощью амплификации соответствующих участков генома методом ПЦР, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в геномной базе данных (GDB) и лите-

patype (Dahl et al., 2001; Hull et al., 2001; Levecque et al., 2003; Novoradovsky et al., 1999; Patel et al., 2000; Yang et al., 2000).

В работе использованы стандартные методы биометрии. При описании генетических характеристик исследованных групп использовали следующие методы: распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (РХВ) с помощью точного теста Фишера (Вейр, 1995); для сравнения частот аллелей между различными группами и для оценки связи качественных признаков с исследуемыми генетическими маркерами использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность; для оценки связи количественных признаков - непараметрические тесты Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Клинико-генеалогическое исследование больных ХОБЛ.** По данным генеалогического анамнеза была собрана информация о состоянии здоровья родственников 1-3-й степени родства пробандов, страдающих ХОБЛ (русских – 839, татар - 955), и пробандов контрольных групп (русских – 1205, татар - 2552). Установлен достоверно ( $p < 0,01$ ) более высокий уровень заболеваемости различными формами хронического бронхита (ХБ) у родственников 1-ой (у представителей обеих этнических групп) и 2-ой (только у русских) степеней родства больных пробандов по сравнению с родственниками индивидуумов контрольных групп (табл. 2). Общая частота легочной патологии, включая туберкулез, опухолевые заболевания легких в рассматриваемых группах существенно не различалась (табл. 2). У родителей пробандов с ХОБЛ статистически значимо более часто ( $p < 0,001$ ) регистрируются случаи ХБ по сравнению с родителями пробандов контрольных групп.

**Частоты аллелей исследованных генов в двух этнических группах Томской области – сибирских татар и русских.** У здоровых индивидуумов (контрольные выборки) в популяциях сибирских татар и русских, среди изученных высокополиморфных систем не показано отклонений в распределении наблюдаемых генотипов от ожидаемых при РХВ для большинства исследованных полиморфизмов (за исключением VNTR и 894G/T полиморфизмов гена *NOS3* и полиморфизма 1465-85G/A гена *NRAMP1*) как у русского населения (табл. 3), так и у сибирских татар (табл. 4). Для VNTR полиморфизма гена *NOS3* показано отклонение распределений генотипов от ожидаемых при РХВ за счет недостатка гетерозиготных носителей в обеих этнических группах. Для полиморфизма 1465-85G/A гена *NRAMP1* отмечено отклонение распределений генотипов от ожидаемых при РХВ также в обеих этнических группах, однако, если у русских имел место недостаток гетерозигот, то у представителей татарского этноса наблюдался избыток гетерозиготных носителей. Для полиморфизма 894G/T гена *NOS3* показано отклонение распределений генотипов от ожидаемых при РХВ только у татар за счет избытка гетерозигот.

Распределение частот аллелей полиморфных вариантов -308G/A гена *TNF*, D543N гена *NRAMP1* и всех исследованных полиморфизмов гена *NOS3* как у сибирских татар, так и у русских находится в границах частот аллелей, полученных для других изученных популяций (Коршунова с соавт., 2004; Хуснутдинова с соавт., 2003; Bellamy et al., 1998; Huang et al., 1997; Mäkelä et al., 2001; Yip et al., 2003).

Таблица 2

**Распространенность легочной патологии у родственников пробандов, больных ХОБЛ, и здоровых индивидуумов**

	Родственники пробандов								
	Русские								
	1-ой степени родства			2-ой степени родства			3-ей степени родства		
	Больные N (%)	Контроль N (%)	p	Больные N (%)	Контроль N (%)	p	Больные N (%)	Контроль N (%)	p
Всего человек	310	534			414		500		
Частота легочной патологии (кроме ХБ) у родственников – N	5 (1,6)	17 (3,2)	0,2	7 (1,7)	5 (1,0)	0,5	0	1 (0,6)	0,8
Наличие ХБ у родственников - N	18 (3,4)	2 (0,4)	<0,00001	8 (1,6)	0	<0,01	1 (0,6)	0	0,8
	Татары								
	1-ой степени родства			2-ой степени родства			3-ей степени родства		
	Больные N (%)	Контроль N (%)	p	Больные N (%)	Контроль N (%)	p	Больные N (%)	Контроль N (%)	p
	Всего человек	340		875			481	979	
Частота легочной патологии (кроме ХБ) у родственников	9 (2,6)	22 (2,5)	0,9	9 (1,9)	9 (0,9)	0,2	3 (0,4)	4 (0,6)	0,2
Наличие ХБ у родственников	16 (1,8)	2 (0,2)	<0,00001	1 (0,1)	3 (0,3)	0,8	0	0	-

**Примечание:** N – абсолютное число больных; p – достигнутый уровень значимости для точного теста Фишера

Таблица 3

**Изменчивость полиморфных вариантов исследуемых генов-кандидатов в  
обследованных группах русской национальности**

Ген	Поли- морфизм	Гено- типы	Контроль				Больные			
			N.O.	$\chi^2$ d.f.=1	Частота аллеля	$h_o$ $h_e$	N.O.	$\chi^2$ d.f.=1	Частота аллеля	$h_o$ $h_e$
<i>TNFA</i>	-308G/A	GG	133	1,18 $p>0,05$	A=0,16	0,251 0,273	44	0,49 $p>0,05$	A=0,20	0,352 0,325
		AG	47				25			
		AA	7				2			
<i>IL8</i>	-251A/T	AA	36	0,37 $p>0,05$	A=0,46	0,520 0,497	20	0,002 $p>0,05$	A=0,54	0,500 0,497
		AT	93				35			
		TT	50				15			
<i>NOS1</i>	C/T	CC	69	0,01 $p>0,05$	T=0,38	0,475 0,471	29	1,51 $p>0,05$	T=0,34	0,514 0,449
		CT	86				37			
		TT	26				6			
<i>NOS3</i>	VNTR	AA	19	<b>21,9</b> $p<0,01$	A=0,21	0,219 0,333	8	3,12 $p>0,05$	A=0,27	0,310 0,392
		AB	41				22			
		BB	127				41			
<i>NOS3</i>	774C/T	CC	117	2,94 $p>0,05$	T=0,21	0,291 0,334	42	0,17 $p>0,05$	T=0,23	0,366 0,349
		CT	53				26			
		TT	12				3			
<i>NOS3</i>	-691C/T	CC	124	0,54 $p>0,05$	T=0,17	0,301 0,285	41	1,19 $p>0,05$	T=0,23	0,394 0,349
		CT	55				28			
		TT	4				2			
<i>NOS3</i>	894G/ T	GG	61	1,61 $p>0,05$	T=0,45	0,450 0,496	9	2,88 $p>0,05$	T=0,58	0,583 0,486
		GT	85				42			
		TT	43				21			
<i>NRAMP1</i>	D543N	GG	170	0,42 $p>0,05$	A=0,05	0,091 0,087	65	<b>11,95</b> $p<0,05$	A=0,06	0,069 0,117
		GA	17				5			
		AA	0				2			
<i>NRAMP1</i>	469+14 G/C	GG	124	2,69 $p>0,05$	C=0,17	0,312 0,278	55	0,02 $p>0,05$	C=0,13	0,222 0,219
		GC	57				16			
		CC	2				1			
<i>NRAMP1</i>	1465-85 G/A	GG	98	<b>5,56</b> $p<0,05$	A=0,29	0,341 0,413	30	0,35 $p>0,05$	A=0,34	0,479 0,447
		AG	62				34			
		AA	22				7			

**Примечание:** здесь и в табл. 4: N.O. – наблюдаемая численность генотипов; критерий  $\chi^2$  использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга; d.f. – число степеней свободы;  $h_o$  и  $h_e$  – соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность.

**Изменчивость полиморфных вариантов исследуемых генов-кандидатов в  
обследованных группах татарской национальности**

Ген	Поли- морфизм	Гено- типы	Контроль			Больные				
			N.O.	$\chi^2$ d.f.=1	Частота аллеля	$h_o$ $h_e$	N.O.	$\chi^2$ d.f.=1	Частота аллеля	$h_o$ $h_e$
<i>TNFA</i>	-308G/A	GG	107	0,15 $p>0,05$	A=0,11	0,187 0,193	32	2,41 $p>0,05$	A=0,18	0,360 0,295
		AG	25				18			
		AA	2				0			
<i>IL8</i>	-251A/T	AA	26	1,20 $p>0,05$	A=0,43	0,443 0,491	7	2,36 $p>0,05$	A=0,46	0,609 0,496
		AT	54				28			
		TT	42				11			
<i>NOS1</i>	C/T	CC	32	0,75 $p>0,05$	T=0,49	0,537 0,500	11	2,8 $p>0,05$	T=0,47	0,604 0,498
		CT	72				29			
		TT	30				8			
<i>NOS3</i>	VNTR	AA	8	<b>22,56</b> $p<0,00$ <b>1</b>	A=0,12	0,128 0,217	9	<b>7,69</b> $p<0,01$	A=0,31	0,260 0,428
		AB	17				13			
		BB	108				28			
<i>NOS3</i>	774C/T	CC	89	3,65 $p>0,05$	T=0,20	0,269 0,322	30	0,12 $p>0,05$	T=0,22	0,360 0,343
		CT	36				18			
		TT	9				2			
<i>NOS3</i>	-691C/T	CC	78	0,03 $p>0,05$	T=0,24	0,358 0,364	32	0,55 $p>0,05$	T=0,19	0,340 0,308
		CT	48				17			
		TT	8				1			
<i>NOS3</i>	894G/T	GG	44	<b>4,08</b> $p<0,05$	T=0,39	0,560 0,477	12	0,74 $p>0,05$	T=0,48	0,560 0,499
		GT	75				28			
		TT	15				10			
<i>NRAMP1</i>	D543N	GG	113	0,88 $p>0,05$	A=0,08	0,150 0,139	42	1,06 $p>0,05$	A=0,09	0,140 0,164
		GA	20				7			
		AA	0				1			
<i>NRAMP1</i>	469+14 G/C	GG	79	6,43 $p<0,05$	C=0,21	0,403 0,331	36	1,15 $p>0,05$	C=0,13	0,265 0,230
		GC	54				13			
		CC	1				0			
<i>NRAMP1</i>	1465-85 G/A	GG	49	<b>5,42</b> $p<0,05$	A=0,36	0,552 0,460	25	0,27 $p>0,05$	A=0,28	0,429 0,399
		AG	74				21			
		AA	11				3			

Распространенность аллелей других исследованных полиморфизмов у русских и татар отличается от полученных данных для представителей иных этнических групп. Частоты аллелей 469+14C и 1465-85A гена *NRAMP1* как у сибирских татар, так и у русских выше по сравнению с представителями монголоидной и негроидной

рас (Bellamy et al., 1998; Maliarik et al., 2000; Yang et al., 2000; Yip et al., 2003). Распространенность аллеля -251А гена *IL8* у русских и татар совпадает с частотой аллеля у европейцев (англичан), но в то же время статистически значимо ниже по сравнению с жителями Африки (Hull et al., 2001). Частота аллеля Т полиморфизма С/Т гена *NOS1* у русских совпадает с частотой данного аллеля у французов (Levesque et al., 2003), в то время как у сибирских татар – существенно выше. Специфика в частотах аллелей изученных сибирских популяций может объясняться как особенностями этногенеза, так и значимостью факторов популяционной динамики.

**Ассоциация полиморфных вариантов исследованных генов-кандидатов с развитием ХОБЛ.** С целью исключения больных с врожденной ААТН из выборки пациентов, страдающих ХОБЛ, было проведено генотипирование двух наиболее распространенных дефицитных аллелей гена *PI* (S и Z). Выявлено 2 гетерозиготных носителя по аллелю S, что позволило оставить выборки больных без изменений, поскольку при данном генотипе (MS) количество синтезируемого  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора достаточно для защиты легочной ткани от воздействия эндогенных эластаз (Гембицкая, 1976; Сох, 1989).

Анализ по всем высокополиморфным вариантам исследованных генов (за исключением VNTR полиморфизма гена *NOS3* у татар) среди больных ХОБЛ не выявил отклонения распределений наблюдаемых генотипов от ожидаемых при РХВ у представителей обеих этнических групп (табл. 3, 4). У татар по VNTR полиморфизму наблюдалось отклонение от РХВ за счет недостатка гетерозиготных носителей.

Как у русских, так и у татар не установлено статистически значимых различий в распределении генотипов и частот аллелей между группами больных ХОБЛ и представителями контрольных выборок ( $p > 0,1$ ) по аллельным вариантам генов *NOS1*, *IL8*, *NRAMP1*, а также полиморфизмам -691С/Т и 774С/Т гена *NOS3*. Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) были установлены для полиморфизмов -308G/A гена *TNF* и VNTR гена *NOS3* у татар и полиморфизма 894G/T гена *NOS3* у русских. По полиморфизму -308G/A гена *TNF* у больных ХОБЛ татарской национальности преобладали гетерозиготные носители (AG) по сравнению с контрольной группой. При анализе аллельных вариантов гена *NOS3* (894G/T у русских и VNTR у татар) установлены достоверные различия в распределении генотипов и аллелей между больными и индивидуумами контрольных групп: более высокие частоты 894Т аллеля (ТТ генотипа) у русских больных и А аллеля (АА и АВ генотипов) VNTR полиморфизма у больных татарской национальности. С учетом того, что Т аллель полиморфизма 894G/T (Kharitonov et al., 2001; Ricciardolo et al., 2003) и А аллель VNTR полиморфизма (Wang et al., 1997) связаны с более низким синтезом оксида азота, играющего роль эндогенного бронходилататора, можно сделать вывод о функциональной значимости данных аллелей в развитии ХОБЛ.

Полученные данные свидетельствуют о межэтнических различиях в структуре предрасположенности к ХОБЛ. Отсутствие статистически значимой ассоциации с ХОБЛ других полиморфизмов исследованных генов, тем не менее, не исключает возможного вклада данных полиморфных вариантов в особенности течения заболевания, а также их связь с наличием и сроками появления осложнений.

**Ассоциация генов-кандидатов с клиническими особенностями ХОБЛ.** В исследование были включены следующие клинические характеристики течения ХОБЛ: возраст начала заболевания, степень тяжести, этиология обострения ХОБЛ. Установлена ассоциация срока манифестации ХОБЛ с полиморфизмом 1465-85G/A гена *NRAMP1* в обеих этнических группах. При этом у русских, являющихся носителями генотипа GG в среднем возраст начала заболевания - 34 года, в то время как у лиц с генотипами GA и AA наблюдается более поздний срок манифестации ХОБЛ – в среднем в 43 года. У татар, наоборот: у носителей GG генотипа – 44 года, AA и AG генотипов – 32 года. Кроме того, у татар возраст начала ХОБЛ связан с полиморфизмом C/T гена *NOS1*: у носителей CC генотипа данного гена средний возраст начала заболевания 28 лет, а CT и TT генотипов – 43 года.

Как у русских, так и у татар установлена связь полиморфизма D543N гена *NRAMP1* с ОФВ<sub>1</sub> ( $p < 0,05$ ), который, являясь одним из основных спирометрических показателей, отражает степень обструкции бронхов и, следовательно, степень тяжести ХОБЛ. Более низкие значения показателя (средний ОФВ<sub>1</sub> около 50%) ассоциируются с А аллелем в гомо- и гетерозиготном состоянии данного полиморфного варианта гена *NRAMP1* (рис. 1).

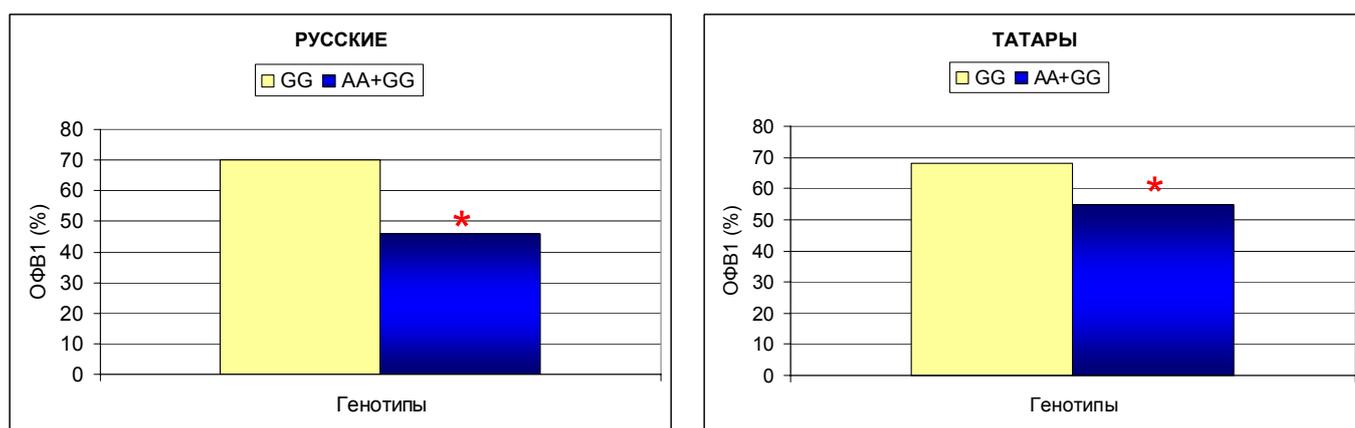


Рис. 1. Ассоциация показателей функции внешнего дыхания (ОФВ<sub>1</sub>) с полиморфизмом D543N гена *NRAMP1* у больных ХОБЛ (\*-  $p < 0,05$ ).

Не установлено ассоциации аллельных вариантов исследованных генов с наличием инфекционного агента как причины обострения ХОБЛ (согласно данным бактериологического исследования мокроты) у больных русской национальности.

**Связь генов-кандидатов ХОБЛ с количественными признаками, патогенетически значимыми для развития заболевания.** Патогенетически обоснованным является изучение ассоциации генов-кандидатов со следующими биохимическими и иммунологическими показателями сыворотки крови и мокроты у пациентов, страдающих ХОБЛ: протеиназы (эластаза (Э), трипсиноподобные протеиназы (ТПП)); ингибиторы протеиназ ( $\alpha$ 1-протеиназный ингибитор ( $\alpha$ 1-ПИ),  $\alpha$ 2-макроглобулин ( $\alpha$ 2-МГ), кислотостабильные ингибиторы (КСИ)); цитокины (ФНО- $\alpha$  и ИЛ8).

Установлена связь полиморфизма -308G/A гена *TNF* с активностью протеиназ, протеиназных ингибиторов и уровнем ФНО- $\alpha$  у больных ХОБЛ русской национальности. Аллель А в гомо- и гетерозиготном состоянии ассоциируется с более низкими средними показателями активности протеиназ в период обострения ХОБЛ: ТПП

в сыворотке крови (80,36 нмоль х мин./мл\*) и мокроте (0,76 нмоль х мин./мл) и Э в мокроте (0,64 нмоль х мин./мл). Кроме того, с этим же аллелем связана более низкая активность ингибиторов протеиназ  $\alpha$ 1-ПИ (0,25 иЕ/мл) и  $\alpha$ 2-МГ (0,03 иЕ/мл) в мокроте в период обострения заболевания (рис. 2). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии компенсаторных механизмов адекватного ответа на повреждение в дыхательных путях, что приводит к затяжному течению воспалительного процесса. Повышенный уровень ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови как в период обострения (193,80 пг/мл), так и в период ремиссии ХОБЛ (370,34 пг/мл) ассоциируется с гомозиготным генотипом GG ( $p < 0,05$ ). Суммируя, полученные результаты можно сделать вывод, что полиморфизм -308G/A гена *TNF* у русских играет значимую роль в формировании ХОБЛ у русских.

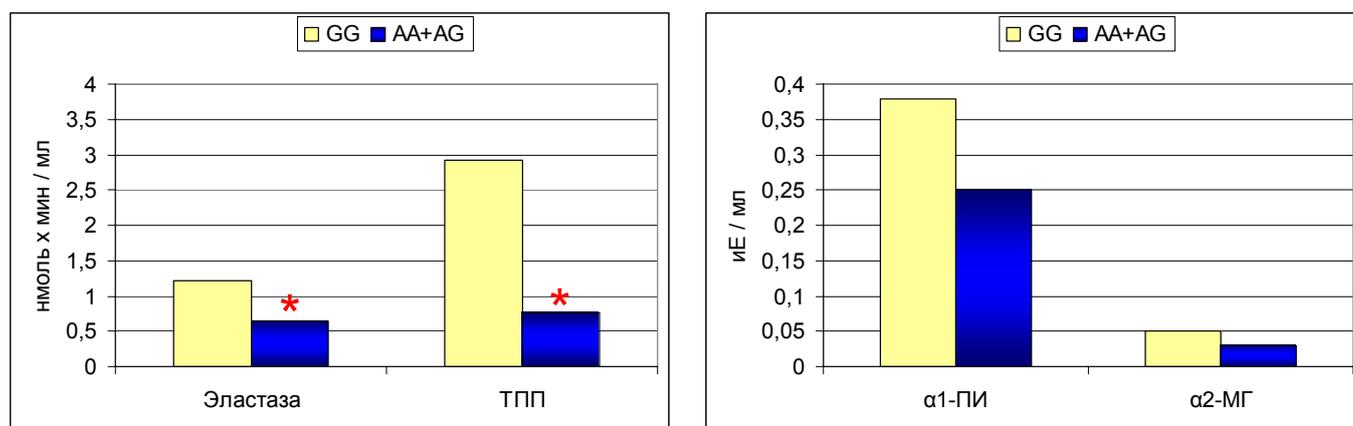


Рис. 2. Средние уровни активности протеиназ и их ингибиторов в мокроте в период обострения ХОБЛ у русских с разными генотипами по гену *TNF* (полиморфизм -308G/A) (\* -  $p < 0,05$ ).

У татар-носителей GG генотипа гена *TNF* установлено статистически значимо ( $p < 0,05$ ) более высокая активность протеиназ ТПП (99,51 нмоль х мин./мл) и Э (102,88 нмоль х мин./мл) в сыворотке крови в период ремиссии заболевания, что свидетельствуют о сохраняющейся системной воспалительной реакции организма. Однако однозначно утверждать о функциональной значимости GG генотипа полиморфного варианта -308G/A гена *TNF* в отношении ХОБЛ в данной ситуации нельзя, так как показатели мокроты (Э и ТПП) в период клинической ремиссии болезни, которые более достоверно отражают течение воспалительного процесса в бронхиальном дереве (Дементьева, 2004), находятся в пределах нормальных показателей\*\*.

Сходная картина у татар наблюдается и для полиморфизма -251A/T гена *IL8*: TT генотип ассоциируется с повышенной активностью ТПП в сыворотке крови в период ремиссии заболевания (108,11 нмоль х мин./мл);  $p < 0,05$  и не повышенным уровнем в мокроте (0,68 нмоль х мин./мл);  $p > 0,05$ , что также позволяет предположить невысокую функциональную значимость аллельного варианта -251A/T в патогенезе ХОБЛ у сибирских татар.

\* - здесь и далее в скобках указаны средние значения показателя

\*\* - здесь и далее за нормальные приняты показатели здоровых индивидуумов

Связь С/Т полиморфизма гена NOS1 с количественными признаками, а именно, с показателями активности протеиназ в мокроте установлена только в русской этнической группе (табл. 5). У носителей СС генотипа отмечается в среднем более высокая ( $p < 0,05$ ) активность Э и ТПП в мокроте в период обострения заболевания. При этом, хотя полученные данные статистически незначимы ( $p > 0,05$ ), необходимо принять во внимание тот факт, что у носителей СС генотипа в период обострения ХОБЛ активность ингибиторов протеиназ  $\alpha 1$ -ПИ и  $\alpha 2$ -МГ остается практически без изменений (не повышается), что позволяет сделать вывод, что С/Т полиморфизм гена *NOS1* играет роль в патогенезе ХОБЛ у русских, ассоциируясь с дисбалансом в системе протеиназы/антипротеиназы за счет повышенной активности первых.

Таблица 5

**Средние уровни биохимических показателей в мокроте у русских, страдающих ХОБЛ, с разными генотипами по гену *NOS1* (полиморфизм С/Т)**

Генотип Признак	СС			СТ+ТТ			P
	n	M	m	n	M	m	
$\alpha 1$ -ПИ_M1	15	0,37	0,18	26	0,31	0,23	0,328
$\alpha 1$ -ПИ_M2	21	0,39	0,04	29	0,30	0,04	0,153
$\alpha 2$ -МГ_M1	11	0,020	0,002	18	0,022	0,001	0,276
$\alpha 2$ -МГ_M2	11	0,024	0,002	15	0,022	0,001	0,330
ТПП_M1	14	2,45	2,17	23	1,04	0,77	<b>0,007</b>
ТПП_M2	21	1,88	0,55	27	0,74	0,07	0,053
Э_M1	13	0,78	0,12	17	0,49	0,05	<b>0,050</b>
Э_M2	21	0,57	0,09	27	0,89	0,49	0,064

**Примечание:** здесь и в табл. 6-7: n – число обследованных; M – среднее значение показателя; m – стандартное отклонение. p – достигнутый уровень значимости для теста Манна-Уитни. M1 – мокрота при обострении; M2 – мокрота вне обострения.

Все исследованные полиморфизмы гена NOS3 так или иначе оказались связаны с активностью протеиназ и их ингибиторов, как в сыворотке крови, так и в мокроте, не только при обострении, но и в период ремиссии ХОБЛ у представителей обеих этнических групп. Больше число полиморфизмов оказалось вовлечено в процесс регуляции у русских, меньше – у татар.

У представителей русской этнической группы установлена ассоциация полиморфизмов VNTR (ВВ генотип), 774С/Т (СТ и ТТ генотипы) и -691С/Т (СТ и ТТ генотипы) с повышенными показателями активности протеиназы ТПП в мокроте в период обострения заболевания (рис. 3), что является крайне неблагоприятным фактором, так как повышенная активность протеиназ приводит к большему повреждению бронхиального дерева при ХОБЛ. У носителей альтернативных аллельных вариантов данных полиморфизмов гена *NOS3* активность ТПП в мокроте приближена к нормальным показателям. Кроме того, отмечается в среднем более высокая активность ТПП в сыворотке крови ( $p < 0,05$ ) у носителей СТ и ТТ генотипов -691С/Т полиморфизма и более низкая активность ингибитора протеиназ (КСИ) у носителей ВВ генотипа VNTR полиморфизма ( $p < 0,05$ ) в период клинической ремиссии ХОБЛ.

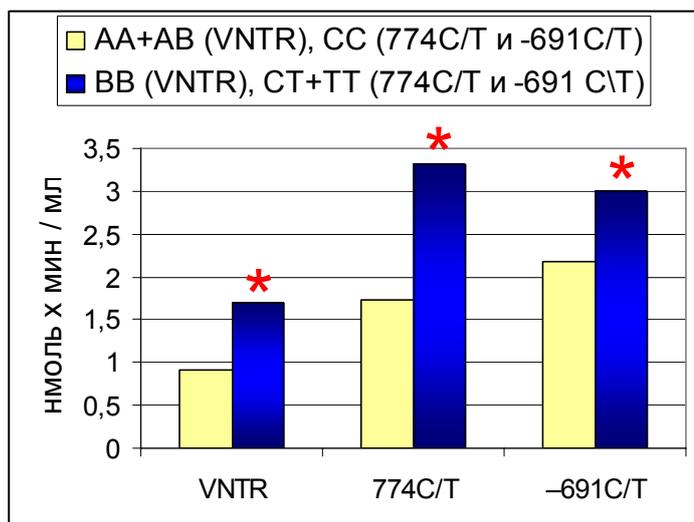


Рис. 3. Средние уровни активности ТПП в мокроте в период обострения заболевания ХОБЛ у русских с разными генотипами по гену *NOS3* (полиморфизмы VNTR, 774C/T, -691C/T) (\* -  $p < 0,05$ ).

На основании полученных данные можно сделать вывод о значимой роли аллельных вариантов VNTR, 774C/T и -691C/T гена *NOS3* в патогенезе ХОБЛ у русских.

Антипротеиназная активность сыворотки крови у представителей обеих этнических групп связана с 894G/T полиморфизмом гена *NOS3* ( $p < 0,05$ ). У русских генотип TT данного полиморфизма ассоциируется с повышенной активностью протеиназного ингибитора  $\alpha 2$ -МГ в сыворотке крови в период ремиссии заболевания (3,68 иЕ/мл);  $p < 0,05$ , но в мокроте уровень активности  $\alpha 2$ -МГ, тем не менее, сохраняется в пределах нормальных показателей (0,06 иЕ/мл);  $p > 0,05$ , что на первый взгляд ставит под сомнение функциональную значимость 894G/T полиморфизма гена *NOS3* в отношении ХОБЛ у русских. Однако, совокупный анализ всех полученных данных (в частности, ассоциация TT генотипа с развитием ХОБЛ) позволяет предположить значимую роль данного аллельного варианта гена *NOS3* в формировании ХОБЛ у представителей русской этнической группы.

У татар носителей 894T аллеля в гомозиготном состоянии отмечается повышенная активность  $\alpha 2$ -МГ в период обострения ХОБЛ как в сыворотке крови (3,95 иЕ/мл);  $p < 0,05$ , так и в мокроте (0,16 иЕ/мл);  $p < 0,05$ . Высокая активность  $\alpha 2$ -МГ в данном случае является повреждающим фактором, так как избыток этого ингибитора повышает пролиферативную активность клеток, приводя в итоге, к плоскоклеточной метаплазии бронхиального эпителия (Binder et al., 2002). Кроме того, 894T аллель гена *NOS3* у татар ассоциируется с более низкими показателями активности протеиназы ТПП, как в сыворотке крови, так и в мокроте, в период обострения ХОБЛ и вне его (рис. 4), отражая низкую ответную реакцию организма, что в данной ситуации также свидетельствует об аномальном течении воспалительного процесса. Таким образом, можно сделать вывод о функциональной значимости аллельного варианта 894G/T гена *NOS3* в патогенезе ХОБЛ у сибирских татар.

**Ген *NRAMP1*** играет роль в изменении биохимических показателей, как у русских, так и у татар. Полиморфизм D543N ассоциируется с изменением активности ингибиторов протеиназ в период клинической ремиссии ХОБЛ в обеих этнических группах ( $\alpha 1$ -ПИ в мокроте у русских и  $\alpha 2$ -МГ в сыворотке крови у татар) (табл. 6). У носителей аллеля А в гомо- и гетерозиготном состоянии данного полиморфного варианта гена *NRAMP1* русской национальности отмечается статистически значимо более высокий уровень ( $p < 0,05$ ) активности  $\alpha 1$ -ПИ в мокроте вне обострения, по сравнению с данными показателями мокроты у носителей GG генотипа, свидетель-

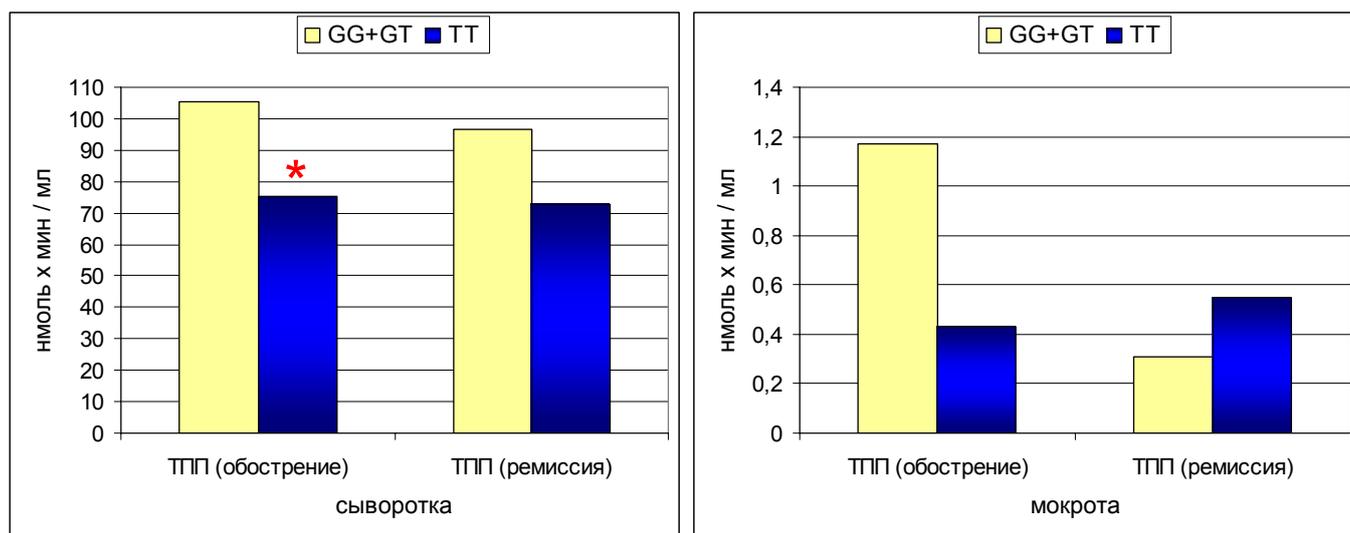


Рис. 4. Средние уровни активности ТПП в сыворотке крови и мокроте при обострении и в период ремиссии ХОБЛ у татар с разными генотипами по гену *NOS3* (полиморфизм 894G/T) (\*-  $p < 0,05$ ).

ствующее о продолжающемся местном воспалительном процессе на фоне клинической ремиссии заболевания (Barnes, 1999), что также является неблагоприятным фактором течения ХОБЛ. У татар AA и AG генотипы полиморфизма D543N ассоциируются с повышенной активностью  $\alpha 2$ -МГ в сыворотке крови вне обострения ( $p < 0,05$ ), указывая на сохраняющуюся системную воспалительную реакцию организма в период клинической ремиссии (табл. 6). Однако, в данной ситуации сложно судить о функциональной значимости полиморфизма D543N гена *NRAMP1* в отношении ХОБЛ, так как отсутствуют сведения об активности  $\alpha 2$ -МГ в мокроте.

Таблица 6

**Активность  $\alpha 1$ -ПИ и  $\alpha 2$ -МГ у русских и татар, страдающих ХОБЛ с разными генотипами по гену *NRAMP1* (полиморфизм D543N)**

Признак	GG			AG+AA			p
	n	M	m	n	M	m	
<b>Русские</b>							
$\alpha 1$ -ПИ M2	45	0,32	0,03	5	0,54	0,00	<b>0,020</b>
<b>Татары</b>							
$\alpha 2$ -МГ_C2	38	3,01	0,17	8	3,98	0,40	<b>0,042</b>

**Примечание:** C2 – сывороточный показатель вне обострения.

Полиморфный вариант 469+14G/C гена *NRAMP1* также ассоциируется с активностью антипротеиназ, как у русских, так и у татар, но с некоторыми межэтническими различиями. Носители GC и CC генотипов русской национальности в период обострения имеют в среднем более низкую активность ингибиторов протеиназ  $\alpha 1$ -ПИ в сыворотке крови и КСИ в мокроте (табл. 7). Принимая во внимание тот факт, что параллельно у носителей этих генотипов отмечается повышенная активность протеиназ (ТПП и Э) в мокроте ( $p > 0,05$ ), что свидетельствует о наличии дисбаланса в системе протеиназы/антипротеиназы, можно предположить высокую

функциональную значимость полиморфизма 469+14G/C гена *NRAMP1* в патогенезе ХОБЛ у русских (табл. 7).

Таблица 7

**Средние уровни показателей активности протеиназ и их ингибиторов у русских, страдающих ХОБЛ с разными генотипами по гену *NRAMP1* (полиморфизм 469+14G/C)**

Признак	GG			GC+CC			p
	n	M	m	n	M	m	
$\alpha$ 1-ПИ С1	30	26,62	1,99	10	13,36	3,07	<b>0,0003</b>
КСИ М1	41	6,04	0,02	10	2,65	0,36	<b>0,003</b>
Э М1	22	0,51	0,05	7	0,80	0,18	0,469
ТПП М1	24	1,15	0,175	7	2,38	0,661	0,076

У татар установлена ассоциация GG генотипа данного полиморфного варианта с более высокими показателями активности КСИ в сыворотке крови в период обострения заболевания (515,56 мЕ/мл);  $p < 0,05$ , свидетельствующими о системной воспалительной реакции организма. Однако, учитывая, что КСИ мокроты в период обострения сохраняется в пределах нормальных показателей (9,08 мЕ/мл);  $p > 0,05$ , можно сделать вывод об отсутствии значимой роли полиморфизма 469+14G/C гена *NRAMP1* у сибирских татар в патогенезе ХОБЛ.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что, хотя в результате исследования было показано достаточно большое количество связей генов-кандидатов ХОБЛ с различными биохимическими и иммунологическими маркерами заболевания, функциональное значение в отношении развития ХОБЛ имеют лишь некоторые аллельные варианты исследованных генов: у русских - полиморфизм -308G/A гена *TNF*, полиморфизм C/T гена *NOS1*, аллельные варианты D543N, 469+14G/C гена *NRAMP1* и VNTR, 774C/T, -691C/T, 894G/T гена *NOS3*; у татар – полиморфизмы D543N гена *NRAMP1* и 894G/T гена *NOS3*.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено изучению роли наследственной компоненты патогенеза хронической обструктивной болезни легких. Установлена более частая заболеваемость хроническим бронхитом родственников пробандов, страдающих ХОБЛ, у представителей обеих этнических групп, что подтверждает семейное накопление заболевания, согласуясь с данными предыдущих исследований (Мостовой и др., 1987, 1988; Khoury et al., 1985; Panhuysen et al., 1998; Silverman, 2002).

В обеих этнических группах выявлены различия по частотам аллелей изученных полиморфных вариантов генов *NOS1*, *IL8* и *NRAMP1* в сравнении с другими ранее изученными популяциями (по данным литературы). Это может быть обусловлено многими факторами, в том числе, особенностями этногенеза популяций, что, в конечном итоге, может объяснять формирование межэтнических различий в предрасположенности к некоторым заболеваниям и, в частности, к ХОБЛ.

Имеют место различия значимости исследованных генов-кандидатов в формировании ХОБЛ у русских и татар. У русских на развитие заболевания влияет полиморфизм 894G/Т гена *NOS3*, в то время как у татар - полиморфизм -308G/А гена *TNF* и VNTR полиморфизм гена *NOS3*. Связь гена *TNF* с ХОБЛ была показана ранее в исследованиях, проведенных на других популяциях (Huang et al., 1997; Keicho et al., 1999; Sakao et al, 2002).

В настоящем исследовании установлена связь изученных генов-кандидатов ХОБЛ с некоторыми качественными и количественными признаками заболевания. Показано влияние аллельных вариантов полиморфизма 1465-85G/А гена *NRAMP1* на сроки начала ХОБЛ как у русских, так и у татар, и полиморфизма С/Т гена *NOS1* - только у татар. Выявлена достоверная ассоциация степени обструкции дыхательных путей (по данным спирометрии) с полиморфизмом D543N гена *NRAMP1* у представителей обеих национальностей.

При анализе ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов с биохимическими и иммунологическими показателями сыворотки крови и мокроты установлено наличие межэтнических особенностей в регуляции уровня провоспалительных и защитных механизмов, патогенетически значимых в формировании хронического воспаления при ХОБЛ. Полученные данные уже сейчас позволяют сделать первые выводы о генетических основах регуляции активности протеиназной и антипротеиназной систем организма, а также эндогенных регуляторов уровня провоспалительных цитокинов. Можно предположить, что изначальный (врожденный?) дисбаланс в системе протеиназы/антипротеиназы связан со следующими аллельными вариантами исследованных генов-кандидатов ХОБЛ: полиморфизмом -308G/А гена *TNF*; полиморфизмом С/Т гена *NOS1*; VNTR, -691С/Т, 774С/Т и 894G/Т полиморфизмами гена *NOS3*, а также аллельными вариантами D543N и 469+14G/С гена *NRAMP1*. Уровень провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ ) ассоциируется только с полиморфизмом одноименного гена *TNF*.

Таким образом, показана вовлеченность большого числа изученных аллельных вариантов генов-кандидатов ХОБЛ в регуляцию активности биохимических и иммунологических показателей, играющих роль в патогенезе заболевания. При этом, более лабильными являются биохимические показатели (а именно, протеиназы), в регуляции которых принимают участие несколько генов: один ген может оказывать влияние на несколько показателей и один показатель детерминирован несколькими генами, что является более благоприятной ситуацией. Поскольку изученные полиморфизмы в популяции встречаются с высокой частотой, при различном сочетании генотипов у больного может наблюдаться «нивелирование» неблагоприятных эффектов отдельных аллельных вариантов или генотипов. Уровень же провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  связан только с геном *TNF*, что с большей вероятностью может привести к развитию дисбаланса между провоспалительными и защитными механизмами, хронизации течения воспалительного процесса в бронхиальном дереве и формированию ХОБЛ при носительстве неблагоприятного аллеля или генотипа.

Результаты настоящей работы, проведенной на ранее неисследованных в отношении ХОБЛ этнических группах, вносят определенный вклад в общую картину понимания наследственной компоненты ХОБЛ и предопределяют направления бу-

душих исследований, которые позволят полностью понять эндогенные механизмы формирования заболевания.

## ВЫВОДЫ

1. У больных ХОБЛ русской и татарской национальностей, проживающих на территории Томской области, клинико-генеалогический анализ показал статистически значимо более частую ( $p < 0,05$ ) регистрацию случаев хронического бронхита у родственников (1-й 2-й степени родства у русских и только 1-ой степени родства у сибирских татар) по сравнению с родственниками соответствующих по национальности здоровых индивидуумов. Распространенность других бронхо-легочных болезней в семьях пробандов сравниваемых выборок существенно не различалась.
2. Русские и татары Томской области по частотам аллелей полиморфных вариантов генов *NRAMP1*, *NOS1* и *IL8* отличаются от других этнических групп. Частота редких аллелей 1465-85A, 469+14C гена *NRAMP1* как у русских (0,29 и 0,17 соответственно), так и у татар (0,60 и 0,21) выше по сравнению с представителями монголоидной и негроидной рас. Распространенность аллеля -251A гена *IL8* близка у русских (0,46) и татар (0,43) с европейцами, однако существенно ниже, чем у африканцев. Частота аллеля Т полиморфизма С/Т гена *NOS1* у русских (0,38) близка к европейцам и ниже, чем у сибирских татар (0,49).
3. Установлена функциональная значимость аллельных вариантов генов *TNF* (полиморфизм -308G/A), *NOS1* (полиморфизм С/Т), *NOS3* (полиморфизмы VNTR, 774C/T, -691C/T и 894G/T) и *NRAMP1* (полиморфизмы 1465-85G/A, D543N и 469+14G/C) в патогенезе ХОБЛ. У сибирских татар и русского населения имеется ряд межэтнических различий в структуре генетической предрасположенности к ХОБЛ и формировании клинических особенностей заболевания.
4. У русских риск развития ХОБЛ связан с геном *NOS3* (полиморфизм 894G/T). Уровень активности протеиназ ассоциируется с генами *NOS1* (С/Т полиморфизм), *NOS3* (полиморфизмы VNTR, 774C/T, -691C/T) и *TNF* (полиморфизм -308G/A). Активность ингибиторов протеиназ связана с аллельными вариантами 469+14G/C гена *NRAMP1* и VNTR гена *NOS3*. Уровень провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  детерминирован одноименным геном *TNF* (полиморфизм -308G/A).
5. У татар генетическими факторами риска развития ХОБЛ являются аллельные варианты гена *TNF* (полиморфизм -308G/A) и *NOS3* (VNTR полиморфизм); более ранний возраст начала заболевания связан с полиморфизмом С/Т гена *NOS1*; уровень активности протеиназ ассоциируется с аллельными вариантами гена *NOS3* (полиморфизм 894G/T).
6. Общим для русских и татар является участие гена *NRAMP1* в формировании клинических особенностей течения ХОБЛ: 1465-85G/A полиморфизм связан с возрастом начала болезни (GG генотип ассоциируется с более ранним сроком манифестации ХОБЛ у русских и, наоборот, более поздними сроками начала болезни у татар); D543N полиморфизм играет значимую роль в степени обструкции дыхательных путей: носительство редкого аллеля А обуславливает большую степень обструкции бронхиального дерева. Степень активности инги-

биторов протеиназ ассоциируется с генами *NRAMP1* (полиморфизм D543N) и *NOS3* (полиморфизм 894G/T).

### СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сеитова Г. Н., Букреева Е. Б. Гены – кандидаты хронического обструктивного бронхита // Генетика человека и патология: Сб. науч. тр. – Томск: Печатная мануфактура, 2002. – Вып. 6. – С. 189-191.
2. Сеитова Г. Н., Богушевич С. А., Дементьева Е. А., Нестерович С. В., Букреева Е.Б. Клинико-генеалогическое исследование больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюл. сиб. медицины. – 2002. - № 4. – С. 38-40.
3. Dementieva E.A., Nesterovich S.V., Seitova G.N., Bukreeva E.B., Schevtcova N.M., Gudcova L.V. Exacerbation aetiology and inflammation markers in chronic obstructive bronchitis // Eur. Respir. J.: Abstracts ERS Ann. Congr. – Stockholm, 2002. – Vol. 20, Suppl. 38. – P. 1625.
4. Букреева Е. Б., Мельник Т. Г., Дементьева Е. А., Нестерович С. В., Сеитова Г. Н. Биологические маркеры при инфекционной и неинфекционной этиологии обострения ХОБЛ // Сб. науч. тр. 13-го Нац. Конгресса по болезням органов дыхания. – СПб, 2003. – С. 323.
5. Сеитова Г. Н., Косянкова Т. В., Букреева Е. Б., Дементьева Е. А., Нестерович С. В., Пузырев В. П. Полиморфизм генов *TNFA* и *NOS3* у больных ХОБЛ // Сб. науч. тр. 13-го Нац. Конгр. по болезням органов дыхания. – СПб, 2003. – С. 339.
6. Косянкова Т. В., Кучер А. Н., Пузырев В. П., Ковалев И. А., Тарасенко Н.В., Сеитова Г. Н. Гены синтаз оксида азота: полиморфизмы в сибирских популяциях и их функциональное значение // Вопр. сохр. и развития здоровья населения Севера и Сибири: Сб. науч. тр. – Красноярск, 2003. – С. 79-81.
7. Дементьева Е. А., Сеитова Г. Н. Нейтрофильные протеиназы и их ингибиторы в оценке бронхиального воспаления при хронической обструктивной болезни легких // Науки о человеке: Сб. ст. 4-го конгр. молодых ученых и специалистов, г. Томск, 15-16 мая 2003 г. - Томск, 2003. - С. 13-14.
8. Сеитова Г. Н., Буйкин С. В., Косянкова Т. В., Дементьева Е.А.Полиморфизмы генов *PI* и *NOS3* у больных хронической обструктивной болезнью легких // Науки о человеке: Сб. ст. 4-го конгр. молодых ученых и специалистов, г. Томск, 15-16 мая 2003 г. - Томск, 2003. - С. 119.
9. Бычкова О. Ю., Богушевич С. А., Сеитова Г. Н. Роль эндогенных и экзогенных факторов в развитии хронической обструктивной болезни легких // Науки о человеке: Сб. ст. 4-го конгр. молодых ученых и специалистов, г. Томск, 15-16 мая 2003 г. - Томск, 2003. - С. 7-8.
10. Букреева Е. Б., Богушевич С. А., Дементьева Е. А., Черногорюк Г. Э., Нестерович С. В., Сеитова Г. Н., Буйкин С. В. Экзогенные и эндогенные факторы в формировании хронической обструктивной болезни легких // Бюл. сиб. медицины. – 2003. - № 1. – С. 75-77.
11. Bukreeva E. B., Nesterovich S. V., Dementieva E. A., Melnik T.G., Gudkova L. V., Seitova G. N. Infection and bronchial obstruction in COPD exacerbation // Eur. Respir. J.: Abstracts ERS Ann. Congr. – Vienna, 2003. – P. 2682.

12. Bukreeva E. B., Dementieva E. A., Nesterovich S. V., Akbasheva O.E., Seitova G. N. Influence of infection and  $\alpha$ 1-proteinase inhibitor on inflammatory response in COPD exacerbation // Eur. Respir. J.: Abstracts ERS Ann. Congr. – Vienna, 2003. – P. 2680.
13. Seitova G. N., Buikin S. V., Dementieva E. A., Nesterovich S. V., Bukreeva E.B. S and Z alleles of *PI* gene among chronic obstructive lung disease patients and their relatives // Conf. ESHG. – Birmingham, 2003. – P. 115.
14. Seitova G. N., Buikin S. V., Bukreeva E. B., Dementieva E. A., Nesterovich S.V., Akbasheva O. E. S and Z alleles of *PI* gene in chronic obstructive pulmonary disease patients // Eur. Respir. J.: Abstracts ERS Ann. Congr. – Vienna, 2003. – A. 253751.
15. Seitova G. N., Bukreeva E. B., Kosynkova T. V., Dementieva E. A., Nesterovich S. V., Puzyrev V. P. VNTR polymorphism *NOS3* gene among chronic obstructive pulmonary disease patients // Eur. Respir. J.: Abstracts ERS Ann. Congr. – Vienna, 2003. – P. 2541.
16. Букреева Е. Б., Нестерович С. В., Дементьева Е. А., Плешко Р. И., Акбашева О. Е., Суханова Г. А. Мельник Т. Г., Сеитова Г. Н., Березко И. В. Применение эреспала у больных хронической обструктивной болезнью легких // Пульмонология. – 2004. - № 2. – С. 102-108.
17. Сеитова Г. Н., Букреева Е. Б., Буйкин С. В., Бычкова О. Ю., Дементьева Е.А., Нестерович С. В., Пузырев В. П. Роль полиморфизма в промоторной области гена *TNF* в развитии хронической обструктивной болезни легких // Бюл. сиб. медицины. – 2004. - № 2. – С. 29-33.
18. Сеитова Г. Н., Буйкин С. В., Бычкова О. Ю. Роль полиморфизмов гена эндотелиальной синтазы оксида азота в развитии хронической обструктивной болезни легких // Науки о человеке: Сб. ст. 5-го конгр. молодых ученых и специалистов, г. Томск, 20-21 мая 2004 г. - Томск, 2004. - С. 216-218.

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

$\alpha$ 1-ПИ – альфа1-протеиназный ингибитор

$\alpha$ 2-МГ – альфа2-макроглобулин

ААТН – альфа1-антитрипсиновая недостаточность

ИЛ – интерлейкин

ИТ – индекс Тиффно

КСИ – кислотостабильные ингибиторы

ОФВ1- объем форсированного выдоха за 1 с

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РХВ – равновесие Харди-Вайнберга

ТПП – трипсиноподобные протеиназы

ХБ – хронический бронхит

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухолей-альфа

Э – эластаза

NO – оксид азота

NOS – синтаза оксида азота