

Молекулярные механизмы фенотипической гетерогенности хронической обструктивной болезни легких: роль JAK/STAT-, NFκB1- сигнального пути и молекул иммунного ответа

Корытина Г.Ф.^{1,2}, Азнабаева Ю.Г.², Темнов М.Ю.², Зулькарнеев Ш.Р.²,
Ахмадишина Л.З.¹, Кочетова О.В.¹, Загидуллин Ш.З.², Викторова Т.В.²

1 — Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
450054, г. Уфа, Пр. Октября, 71

2 — Башкирский государственный медицинский университет
450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – это многофакторное хроническое воспалительное заболевание респираторной системы. Одной из причин трудностей в идентификации маркеров ХОБЛ является фенотипическая гетерогенность. Цель – идентификация новых молекулярных маркеров патогенетических изменений, связанных с фенотипической гетерогенностью ХОБЛ на основе анализа профиля экспрессии генов вовлеченных в развитие иммунного ответа в мононуклеарных клетках периферической крови и анализа ассоциации полиморфных вариантов новых кандидатных генов с развитием ХОБЛ. Проведен сравнительный анализ профиля экспрессии панели 84 генов, кодирующих цитокины, хемокины в РВМС пациентов с различными фенотипами ХОБЛ: с частыми обострениями N=10 и редкими обострениями N=10 и контрольной группе N=10. Для анализа ассоциации использовали образцы ДНК больных ХОБЛ (N=601) и контроля (N=617), методом ПЦР в реальном времени проведен анализ 56 полиморфных локусов генов JAK/STAT-, NFκB1-сигнального путей, кодирующих белки, вовлеченные в реализацию реакций иммунного ответа и воспаления. Выявлены значимые изменения профиля экспрессии ряда генов в группе больных ХОБЛ с частыми обострениями. Впервые получены данные по вкладу полиморфных локусов генов *JAK1*, *JAK3*, *STAT3*, *ICAM1*, *PECAM1*, *SAA1*, *NFKB1*, *IL17A*, *CCR2*, *CCR6*, *CCL8*, *CRP*, *CX3CL1*, *CXCR2*, *CXCR1*, *TNFRSF1A*, *IL20*, *IL19*, в развитие данного заболевания. Выявлены специфические генетические маркеры развития фенотипа с частыми обострениями: *CXCR2*, *TNFRSF1B*, *CCR6*, *TNF*, *IL1B*, *IL10*, *JAK3*, *PECAM1*. Установлена ассоциация полиморфных вариантов генов *TNFRSF1B*, *TNFRSF1A*, *CCL23*, *CXCR2*, *JAK1*, *NFKB1*, *PECAM1*, *ICAM1*, *STAT1*, *LTA*, *CD14*, *CXCL12*, *CCL20*, *ADIPOR1* и *CX3CR1* с показателями функции внешнего дыхания. Определена взаимосвязь аллельных вариантов генов: *IL17A*, *JAK1*, *JAK3*, *NFKB1*, *CCL5*, *CCL11*, *CCL17*, *CXCL8*, *TNFRSF1A*, *CX3CL1*, *CCL8*, *CCR6*, *CXCR2*, *IL19*, *IL20* с индексом курения.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), профиль экспрессии генов

Для цитирования: Корытина Г.Ф., Азнабаева Ю.Г., Темнов М.Ю., Зулькарнеев Ш.Р., Ахмадишина Л.З., Кочетова О.В., Загидуллин Ш.З., Викторова Т.В. Молекулярные механизмы фенотипической гетерогенности хронической обструктивной болезни легких: роль JAK/STAT-, NFκB1- сигнального пути и молекул иммунного ответа. *Медицинская генетика* 2020; 19(8): 100-104.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.100-104

Автор для корреспонденции: Корытина Гульназ Фаритовна; e-mail: guly_kory@mail.ru

Финансирование. Исследование частично финансировалось Российским фондом фундаментальных исследований (№18-015-00050), НИР по госзаданию № АААА-А16-116020350031-4; биологический материал (ДНК) для исследования взят из коллекции «Коллекция биологических материалов человека ИБГ УНЦ РАН» (№. 007-030164 / 2), поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России; работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Биомика» и УНУ «КОДИНК» (ИБГ УФИЦ РАН).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Molecular mechanisms of phenotypic heterogeneity of chronic obstructive pulmonary disease: the role of JAK / STAT-, NFκB1-signaling pathway and inflammatory response molecules

**Korytina G.F.^{1,2}, Aznabava Y.G.², Temnov M.Y.², Zulkarnееv Sh.R.², Akhmadishina L.Z.¹,
Kochetova O.V.¹, Zagidullin Sh.Z.², Viktorova T.V.²**

1 — Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences
Pr. Oktybrya, 71, Ufa, 450054, Russian Federation

2 — Bashkir State Medical University
Lenina Str, 3, Ufa, 450008, Russian Federation

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a multifactorial heterogeneous chronic inflammatory disease of the respiratory system predominantly affecting the lower respiratory pathways and the lung parenchyma. One of the reasons for difficulties in identifying of COPD markers is phenotypic heterogeneity. The goal of the study is the identification of new molecular markers of pathogenetic changes associated with phenotypic heterogeneity of COPD based on the analysis of the expression profile of genes involved in the development of the immune response in peripheral blood mononuclear cells and analysis of the association of polymorphic variants of new candidate genes with COPD.

Methods: to identify differential gene expression in COPD we performed expression profiling of 84 cytokines and chemokines genes in peripheral blood samples from COPD (N=10 with frequent exacerbation phenotype, N=10 rare exacerbation phenotype) and N=10 smoking controls. RNA was isolated from PBMCs, and gene expression was assessed using RT2 Profiler PCR Arrays «Human Cytokines & Chemokines PCR Array» (Qiagen, Valencia, CA, USA). 56 SNPs of JAK / STAT-, NFKB1-signaling pathway and inflammatory response molecules genes were genotyped by the real-time polymerase chain reaction (TaqMan assays) in a case-control study (601 COPD patients and 617 controls).

Results. Significant changes were revealed in the expression profile of several genes in “frequent exacerbator» COPD phenotype. The results indicate a down-regulation of inflammatory molecules in “frequent exacerbator» COPD phenotype. For the first time, we indicated the contribution of *JAK1*, *JAK3*, *STAT3*, *ICAM1*, *PECAM1*, *SAA1*, *NFKB1*, *IL17A*, *CCR2*, *CCR6*, *CCL8*, *CRP*, *CX3CL1*, *CXCR2*, *CXCR1*, *TNFRSF1A*, *IL20*, *IL19* genes polymorphisms to COPD. Specific genetic markers of “frequent exacerbator» COPD phenotype have been identified, which are modifiers of COPD progression, including polymorphic loci of the *CXCR2*, *TNFRSF1B*, *CCR6*, *TNF*, *IL1B*, *IL10*, *JAK3*, *PECAM1* genes. A significant genotype-dependent variation of lung function parameters was observed for *CXCR2*, *JAK1*, *NFKB1*, *PECAM1*, *ICAM1*, *STAT1*, *LTA*, *CD14*, *CXCL12*, *CCL20*, *ADIPOR1* and *CX3CR1* genes. The relationship of *IL17A*, *JAK1*, *JAK3*, *NFKB1*, *CCL5*, *CCL11*, *CCL17*, *CXCL8*, *TNFRSF1A*, *CX3CL1*, *CCL8*, *CCR6*, *CXCR2*, *IL19*, *IL20* genes with smoking pack-years was found.

Keywords: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), expression profiling

For citation: Korytina G.F., Aznabaeva Y.G., Temnov M.Y., Zulkarneev Sh.R., Akhmadishina L.Z., Kochetova O.V., Zagidullin Sh.Z., Viktorova T.V. Molecular mechanisms of phenotypic heterogeneity of chronic obstructive pulmonary disease: the role of JAK / STAT-, NFKB1-signaling pathway and inflammatory response molecules. *Medical genetics*. 2020; 19(7): 100-104 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.100-104

Corresponding author: Gulnaz F. Korytina; e-mail: guly_kory@mail.ru.

Funding: This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research grants (№18-015-00050) and Government research № AAAA-A16-116020350031-4, DNA samples for the study are taken from “Collections of human biological materials IBG UFIC RAS” supported by the Federal Agency for Scientific Organizations program for support the bioresource collections (No. 007-030164 / 2). The work was performed using the equipment of the «Biomiks» collective use center and the UNU KODINK (IBG UFIC RAS).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.05.2020

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — это многофакторное хроническое воспалительное заболевание респираторной системы. Одной из причин трудностей в идентификации маркеров ХОБЛ является фенотипическая гетерогенность [1,2]. Определенная доля пациентов с ХОБЛ более предрасположена к развитию частых обострений заболевания, которые являются причиной резкого прогрессирования обструкции дыхательных путей и неблагоприятного исхода [3]. В настоящее время большое внимание исследователей уделяется идентификации биомаркеров различных фенотипов заболевания и эффективному выявлению пациентов с повышенным риском обострений — ХОБЛ с частыми обострениями [1]. Общеизвестно, что в основе ХОБЛ лежит длительно протекающий воспалительный процесс, касающийся всех структур легочной ткани [2]. Роль воспаления в патогенезе ХОБЛ достаточно широко изучена, но только в последнее время исследователи обратили внимание на системный характер заболевания, и возможную связь хронического системного воспаления и развития обострений при ХОБЛ [2,4]. Иссле-

дований, посвященных ассоциации генетических маркеров с развитием фенотипа с частыми обострениями, пока недостаточно, но клинически показано, что данный фенотип является гомогенной стабильной группой, что указывает на определенную генетическую предрасположенность [4].

Цель исследования: идентификация новых молекулярных маркеров патогенетических изменений, связанных с фенотипической гетерогенностью ХОБЛ на основе анализа профиля экспрессии генов вовлеченных в развитие иммунного ответа в мононуклеарных клетках периферической крови и анализа ассоциации полиморфных вариантов новых кандидатных генов с развитием ХОБЛ.

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. Группа больных включала 601 индивида (из них 522 мужчин (86,85%) и 79 жен-

щин (13,15%)), средний возраст составил $63,38 \pm 11,81$ лет. Диагноз ХОБЛ устанавливался врачами отделения пульмонологии городской клинической больницы № 21 г. Уфы (Республика Башкортостан) согласно Международной Классификации Болезней 10-го пересмотра и с учетом рекомендаций рабочей группы по глобальной стратегии диагностики, лечения и профилактики ХОБЛ [1]. Среди больных ХОБЛ курильщиков и бывших курильщиков — 484 человека (80,53%), некурящих 117 (19,47%). Индекс курения у курильщиков и бывших курильщиков составил $44,58 \pm 25,92$ пачек/лет. У всех больных исследовали функцию внешнего дыхания методом спирометрии, оценивали жизненную емкость легких (ЖЕЛ), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), соотношение объема форсированного выдоха в 1с и жизненной емкости легких (ОФВ₁/ЖЕЛ). В группе больных показатели (в % от нормы) составляли: ОФВ1= $41,68 \pm 19,32$, ФЖЕЛ= $44,22 \pm 17,88$, ЖЕЛ= $49,02 \pm 15,54$, ОФВ1/ФЖЕЛ= $58,66 \pm 13,66$. С целью выявления генетических маркеров, ассоциированных с фенотипами ХОБЛ, проводили сравнение групп контроля и пациентов, дифференцированных по современной классификации [1]. Было выделено два фенотипа: 1 группа — ХОБЛ с частыми обострениями (N=293) при наличии одного или более обострений, приведшего к госпитализации в стационар в течение года, 2 группа — ХОБЛ с редкими обострениями (N=308) при наличии не более одного обострения, не приведшего к госпитализации в стационар. Группа контроля (N=617) включала практически здоровых индивидов, без патологии дыхательной системы и хронических заболеваний в анамнезе, без профессионального контакта с вредными химическими веществами, подобранных по возрасту ($58,44 \pm 14,79$), полу (548 мужчин, 88,88%, и 69 женщин, 11,12%), статусу курения (курильщики и бывшие курильщики — 517 (83,79%) и некурящие — 100 (16,21%)). Индекс курения у курильщиков составлял $38,54 \pm 23,12$ пачек/лет. В группе контроля показатели функции внешнего дыхания составили: ОФВ1= $102,7 \pm 52,1$, ФЖЕЛ= $107,1 \pm 32,05$, ЖЕЛ= $105,3 \pm 42,87$, ОФВ1/ФЖЕЛ= $87,94 \pm 10,69$. В группы для анализа профиля экспрессии включали больных ХОБЛ с различными фенотипами (с частыми обострениями N=10 и редкими обострениями N=10), находящихся в состоянии ремиссии воспалительного процесса более 4 недель на стандартном поддерживающем лечении по протоколу лечения ХОБЛ вне обострения, и образцы здоровых индивидов (N=10), у которых исключены признаки острого и хронического воспалительного процесса, либо после острого процесса про-

шло более 4 недель. Исследование одобрено комитетом по этике ИБГ УНЦ РАН. От всех участников исследования получали информированное добровольное согласие на использование биологического материала в планируемых исследованиях.

Анализ экспрессии целевых генов. Тотальная РНК была выделена из мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) (6 мл) с использованием реактива и протокола TRIzol reagent (www.invitrogen.com). Очистку РНК от примесей геномной ДНК осуществляли с помощью ДНК-азы I, свободной от РНК-аз (Sigma). Синтез кДНК проводили с использованием набора RT² First Strand Kit (Qiagen, www.qiagen.com), 102 мкл, полученного в результате реакции, продукта использовали для анализа экспрессии 84 генов методом ОТ-ПЦР с использованием набора RT2 Profiler PCR Arrays «Human Cytokines & Chemokines PCR Array» (Qiagen, www.qiagen.com) на приборе Bio-Rad CFX96™ (Bio-Rad Laboratories, Inc, USA). Была проанализирована экспрессия следующих генов: хемокины: *CCL1*, *CCL11*, *CCL13*, *CCL17*, *CCL18*, *CCL19*, *CCL2*, *CCL20*, *CCL21*, *CCL22*, *CCL24*, *CCL3*, *CCL5*, *CCL7*, *CCL8*, *CX3CL1*, *CXCL1*, *CXCL10*, *CXCL11*, *CXCL12*, *CXCL13*, *CXCL16*, *CXCL2*, *CXCL5*, *CXCL9*, *PF4*, *PPBP*, *XCL1*; интерлейкины: *IL10*, *IL11*, *IL12A*, *IL12B*, *IL13*, *IL15*, *IL16*, *IL17A*, *IL17F*, *IL18*, *IL1A*, *IL1B*, *IL1RN*, *IL2*, *IL21*, *IL22*, *IL23A*, *IL24*, *IL27*, *IL3*, *IL4*, *IL5*, *IL6*, *IL7*, *IL8*, *IL9*; интерфероны: *IFNA2*, *IFNG*; ростовые факторы: *BMP2*, *BMP4*, *BMP6*, *BMP7*, *CNTF*, *CSF1*, *CSF2*, *CSF3*, *GPI*, *LIF*, *MSTN*, *NODAL*, *OSM*, *THPO*, *VEGFA*; суперсемейство TNF: *CD40LG*, *FASLG*, *LTA*, *LTB*, *TNF*, *TNFRSF11B*, *TNFSF10*, *TNFSF11*, *TNFSF13B*; другие цитокины: *ADIPOQ*, *MIF*, *SPP1*, *TGFB2*. Для нормализации экспрессии RT² профиль включал микроматрицы для пяти генов домашнего хозяйства: *ACTB*, *B2M*, *GAPD*, *HPRT1*, *RPLP0*. Определение относительного уровня мРНК исследуемых генов проводилось с помощью rrCt метода с использованием облачного приложения на сайте производителя (Qiagen, www.qiagen.com).

Генотипирование. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием фенольно-хлороформной очистки. 56 SNP генов *JAK1* (rs310216), *JAK3* (rs3212780), *STAT1* (rs12693591), *STAT3* (rs2293152), *NFKB1* (rs28362491), *IL17A* (rs4711998), *IL17A* (rs1974226), *ADIPOQ* (rs1501299), *ADIPOQ* (rs266729), *ADIPOR1* (rs12733285), *IL1B* (rs16944), *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (rs71941886), *IL6* (rs1800795), *CXCL8* (rs4073), *IL10* (rs1800872), *CCR5* (rs333), *CXCL12* (rs1801157), *CCL2* (rs1024611), *CD14* (rs2569190), *SAAI* (rs1136743), *CCL5* (rs2107538), *PECAM1* (rs281865545), *ICAM1* (rs5498), *CCL11* (rs16969415), *CCL17* (rs223828),

CCL20 (rs6749704), *CCR2* (rs1799864), *CCR6* (rs3093024), *CRP* (rs1205), *CRP* (rs279451), *CX3CL1* (rs170364), *CX3CR1* (rs3732378), *CXCL8* (rs4073), *CXCR2* (rs1126579), *CXCR2* (rs4674258), *CXCR2* (rs2230054), *CXCR1* (rs2234671), *CXCR1* (rs16858811), *CCL23* (rs854655), *TNFA* (rs1800629), *LTA* (rs909253), *TNFRSF1A* (rs767455), *TNFRSF1B* (rs1061624), *TNFRSF1B* (rs1061622), *IL20* (rs2981573), *IL19* (rs2243193), *IL12B* (rs3212227), *IL12B* (rs3212217), *IL12A* (rs568408), *IL12A* (rs2243115), *IL12RB1* (rs401502), *IL12RB1* (rs11575934), *IL12RB2* (rs3790565), *IL13* (rs1800925), *IL13* (rs20541) анализировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (TaqMan зондов) на приборе BioRad CFX96™ («Bio-Rad Laboratories», Inc, USA).

Статистическую обработку данных проводили, используя пакеты прикладных программ Statistica v. 6.0 и PLINK v. 1.07. Логистическую регрессию использовали для выявления ассоциации полиморфных вариантов изученных генов с развитием ХОБЛ; экспоненту отдельного коэффициента регрессии (beta) интерпретировали как отношение шансов (OR) с расчетом 95% доверительного интервала, с учетом пола, возраста, индекса массы тела, статуса и индекса курения. Поправку на множественное тестирование проводили методом оценки доли ложно-положительных результатов FDR (False Discovery Rate). Вклад аллельных вариантов изучаемых генов-кандидатов в вариативность количественных признаков, характеризующих показатели функции внешнего дыхания (ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ₁), индекс курения определяли с помощью критерия Краскела-Уоллиса (в случае трех групп) или Манна-Уитни (в случае двух групп).

Результаты

Анализ профиля экспрессии комплекса генов, кодирующих цитокины, хемокины и другие ключевые молекулы воспалительного ответа в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с ХОБЛ и контрольной группе

Проведенный нами анализ позволил выявить значимые изменения профиля экспрессии ряда генов в группе больных ХОБЛ с частыми обострениями, который характеризовался подавлением транскрипционной активности ряда генов. Значимое снижение экспрессии по сравнению с контрольной группой было выявлено для генов *C5* (Fold Change = 2 (-ΔΔCt)) (FCh=0,35; Fold Regulation (FR) = -2,82; p=0,036), *CCL18* (FCh=0,37; FR=-2,69; p=0,027), *CCL5* (FCh=0,10; FR=-9,91; p=0,003), *IL12A* (FCh=0,25; FR=-4,4; p=0,024), *IL17A* (FCh=0,32; FR=-3,08; p=0,044), *IL24* (FCh=0,24; FR=-4,10; p=0,019), *IL4*

(FCh=0,32; FR=-3,08; p=0,039), *PPBP* (CXCL7) (FCh=0,09; FR=-11,03; p=0,0036), *TGFB2* (FCh=0,38; FR=-2,62; p=0,047), *XCL1* (FCh=0,21; FR=-4,82; p=0,0023), *FASLG* (FCh=0,35; FR=-2,82; p=0,024). Профиль экспрессии генов цитокинов, хемокинов и других ключевых молекул воспалительного ответа в группе больных ХОБЛ с редкими обострениями практически не отличался от такового в контрольной группе. У больных с редкими обострениями ХОБЛ установлено значимое снижение транскрипционной активности только по двум генам: *FASLG* (FCh=0,38; FR=-2,60; p=0,045), *XCL1* (FCh=0,35; FR=-2,89; p=0,02).

Анализ-ассоциации панели полиморфных локусов генов JAK/STAT-, NFKB1- сигнального пути, кодирующих белки, вовлеченные в реализацию реакций иммунного ответа и воспаления с ХОБЛ и развитием различных фенотипов заболевания

Впервые получены данные по вкладу полиморфных локусов генов *JAK1*, *JAK3*, *STAT3*, *PECAM1*, *ICAM1*, *SAAI*, *NFKB1*, *IL17A*, *CCR2*, *CCR6*, *CCL8*, *CRP*, *CX3CL1*, *CXCR2*, *CXCR1*, *TNFRSF1A*, *IL20*, *IL19* в развитие ХОБЛ. Ассоциации с ХОБЛ установлена для полиморфных локусов следующих генов *SAAI* (rs1136743C>T) (p=0,00001, p_{cor-FDR}=0,00005, OR=1,8), *PECAM1* (rs281865545G>C) (p=0,018, p_{cor-FDR}=0,03, OR=1,36), *ICAM1* (rs5498A>G) (p=0,00001, p_{cor-FDR}=0,00004, OR=1,68), *IL17A* (rs1974226G>A) (p=0,0037, p_{cor-FDR}=0,01, OR=2,31), *JAK1* (rs310216G>A) (p=0,00001, p_{cor-FDR}=0,0003, OR=10,71), *JAK3* (rs3212780C>T) (p=0,001, p_{cor-FDR}=0,02, OR=1,61), *STAT3* (rs2293152C>G) (p=0,036, p_{cor-FDR}=0,07, OR=1,71), *NFKB1* (rs28362491ins/del) (p=0,003, p_{cor-FDR}=0,045, OR=1,22), *CCR6* (rs3093024A>G) (p=0,0001, p_{cor-FDR}=0,0003, OR=1,38), *CCL8* (rs3138035C>T) (p=0,00001, p_{cor-FDR}=0,000105, OR=1,49), *CXCR2* (rs2230054C>T) (p=0,0027, p_{cor-FDR}=0,004, OR=1,32), *IL19* (rs2243193G>A) (p=0,0006, p_{cor-FDR}=0,0014, OR=1,41), *CX3CL1* (rs170364T>G) (p=0,023, p_{cor-FDR}=0,026, OR=1,21). Было показано, что локусы *JAK3* (rs3212780) (p=0,001, OR=1,75), *PECAM1* (rs281865545) (p=0,018, OR=1,49), *TNFA* (rs1800629) (p=0,0005, OR=1,78), *IL1B* (rs16944) (p=0,005, OR=1,49) и *IL10* (rs1800872) (p=0,02, OR=0,64), *CXCR2* (rs2230054) (p=0,00001, OR=1,66), *TNFRSF1B* (rs1061622) (p=0,003, OR=0,46), *CCR6* (rs3093024) (p=0,00001, OR=1,45) значимо ассоциируют с развитием заболевания только в группе пациентов с частыми обострениями.

Анализ вклада генотипов полиморфных локусов генов-кандидатов в вариативность количественных показателей функции внешнего дыхания

Ключевой характеристикой прогрессирования обструкции дыхательных путей при ХОБЛ являют-

ся изменение количественных показателей функции внешнего дыхания. Была установлена зависимость показателя ОФВ1 от полиморфных вариантов генов *JAK1*, *STAT1*, *ICAM1*, *LTA*, *TNFRSF1B* и *CD14*. Снижение показателя ОФВ1 было отмечено у индивидов с генотипами ТТ локуса *JAK1* (rs310216) ($p=0,013$), АА локуса *STAT1* (rs12693591) ($p=0,048$), АА локуса *TNFRSF1B* (rs1061624) ($p=0,04$). С другой стороны, у индивидов с генотипом АГ гена *ICAM1* (rs5498) ($p=0,0013$), АГ гена *LTA* (rs909253) ($p=0,01$), GG локуса *CD14* (rs2569190) ($p=0,006$) было отмечено увеличение показателя ОФВ1. Значения ФЖЕЛ варьировали в зависимости от полиморфных вариантов генов *NFKB1*, *ADIPOR1*, *CCL20*, *ICAM1*, *TNFRSF1A*, *CCL23*, *CXCR2* и *CXCL12*. Генотип del/del локуса *NFKB1* (rs28362491) ($p=0,017$), генотип GG *CXCL12* (rs1801157) ($p=0,004$), гетерозиготные генотипы по локусам *ADIPOR1* (rs12733285) ($p=0,043$), *ICAM1* (rs5498) ($p=0,0012$), *CCL23* (rs854655) ($p=0,029$) ассоциированы с более высокими показателями ФЖЕЛ. Генотипы CC локуса *TNFRSF1A* (rs767455) ($p=0,0019$) и ТТ *CXCR2* (rs4674258) ($p=0,033$) чаще встречались у индивидов с низкими показателями ФЖЕЛ. Установлена вариация показателей ЖЕЛ у индивидов с полиморфными вариантами генов *PECAM1* и *CX3CR1*; генотип GG гена *PECAM1* (rs281865545) и генотип АА гена *CX3CR1* (rs3732378) ассоциированы с более высокими показателями ЖЕЛ ($p=0,014$ и $p=0,04$).

Анализ взаимодействий средовых и генетических факторов при формировании ХОБЛ

С воздействием сигаретного дыма связывают появление патологических процессов в легких, развитие системных воспалительных реакций и дисфункцию эндотелия сосудов [1,2]. Комплексная оценка влияния генетических и средовых факторов на риск возникновения хронических заболеваний органов дыхания позволяет не только установить ключевые ген-средовые взаимодействия, формирующие основу предрасположенности к болезни, но и понять механизмы, посредством которых факторы внешней среды способны спровоцировать патологические изменения. Наибольший интерес для нашего исследования представляет индекс курения, указывающий на стаж курения и интенсивность воздействия сигаретного дыма. Выявлены стати-

стически значимые различия показателя индекса курения в зависимости от полиморфных вариантов изучаемых генов-кандидатов. Увеличение индекса курения установлено у индивидов с различными аллельными вариантами генов: *IL17A* (rs4711998) ($p=0,045$), *IL17A* (rs1974226) ($p=0,004$), *JAK1* (rs310216) ($p=0,0005$), *JAK3* (rs3212780) ($p=0,021$), *NFKB1* (rs28362491) ($p=0,042$), *CCL5* (rs2107538) ($p=0,044$), *CCL11* (rs16969415) ($p=0,034$), *CCL17* (rs223828) ($p=0,04$), *CXCL8* (rs4073) ($p=0,016$), *TNFRSF1A* (rs767455) ($p=0,0036$), *CX3CL1* (rs170364) ($p=0,04$), *CCL8* (rs3138035) ($p=0,0043$), *CCR6* (rs3093024) ($p=0,007$), *CXCR2* (rs4674258) ($p=0,03$), *IL19* (rs2243193) ($p=0,0021$), *IL20* (rs2981573) A>G ($p=0,04$).

Выводы

В результате проведенного нами анализа ассоциаций полиморфных локусов генов JAK/STAT-, NFKB1-путей сигнальной трансдукции впервые получены данные по вкладу полиморфных локусов генов *CCR2*, *CCR6*, *CCL8*, *CRP*, *CX3CL1*, *CXCR2*, *CXCR1*, *TNFRSF1A*, *IL20*, *IL19* в развитие данного заболевания. Выявлены специфические генетические маркеры развития фенотипа с частыми обострениями и прогрессирования обструкции дыхательных путей. Установлены значимые изменения уровня экспрессии ряда генов у больных с частыми обострениями ХОБЛ; полученные результаты указывают на угнетение экспрессии ключевых молекул воспалительного ответа при частых обострениях заболевания, приводящее в результате к прогрессированию заболевания и неблагоприятным исходам. Выявленные изменения могут служить чувствительным маркером неблагоприятного течения ХОБЛ и предметом для дальнейших исследования молекулярных основ патогенеза ХОБЛ и фенотипической гетерогенности заболевания.

Литература/ References

1. 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. Barnes P.J. Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD. *Clin Sci (Lond)*. 2017; (131): 1541–1558.
3. Geerdink J.X., Simons S.O., Pike R. et al. Differences in systemic adaptive immunity contribute to the 'frequent exacerbator' COPD phenotype. *Respir Res*. 2016; (17): 140.
4. Shaw J.G., Vaughan A., Dent A.G. et al. Biomarkers of progression of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Thorac Dis*. 2014. (11): 1532–1547.