

Л.М.Огородова¹, Б.А.Черняк², О.В.Козина³, М.Б.Фрейдin⁴, И.Н.Трофименко², Е.С.Куликов⁵, П.А.Селиванова⁵

Молекулярно-генетические аспекты различных фенотипов хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы

1 – ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета: 634050, Томск, Московский тракт, 2;

2 – ГБОУ ДПО ИГМАПО Минздравсоцразвития России, кафедра клинической аллергологии и пульмонологии: 664049, Иркутск, м-н Юбилейный, 100;

3 – СПИД ГБУЗ "Камчатский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями", лаборатория клинической иммунологии и диагностики: 683003, Петропавловск-Камчатский, ул. Ленинградская, 114, корп. 2;

4 – ТНЦ СО РАМН, НИИ медицинской генетики, лаборатория популяционной генетики: 634050, Томск, Набережная реки Ушайки, 10;

5 – ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России, кафедра госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины: 634050, Томск, Московский тракт, 2

L.M.Ogorodova, B.A.Chernyak, O.V.Kozina, M.B.Freidin, I.N.Trofimenko, E.S.Kulikov, P.A.Selivanova

Genetic aspects of different phenotypes of COPD and asthma

Key words: asthma, chronic obstructive pulmonary disease, phenotypes, bronchial biopsy, gene expression, ADRB2, CHRM3, bronchial hyperresponsiveness.

Ключевые слова: бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, фенотипы, бронхобиоптаты, экспрессия генов, ADRB2, CHRM3, бронхиальная гиперреактивность.

Хронические обструктивные заболевания легких, включая бронхиальную астму (БА) и хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), являются одной из важнейших проблем здравоохранения. Согласно данным издания *Global Burden of Asthma*, количество больных, страдающих БА, оценивается как 300 млн человек, а ее распространенность среди взрослого населения составляет от 1 до 18 % в различных регионах. В России этот показатель составляет 2,2 %, тогда как по уровню смертности среди больных БА мы находимся на 2-м месте. В России, по официальным данным Министерства здравоохранения РФ, зарегистрировано более 2 млн больных ХОБЛ, в то же время, по данным эпидемиологических исследований, это число может превышать 11 млн человек, и сохраняется тенденция к росту заболеваемости и смертности от ХОБЛ. Так, по прогнозам "Исследования глобального ущерба от заболеваний", ХОБЛ к 2020 г. выйдет на 3-е место среди причин смерти от хронических заболеваний [1].

Не вызывает сомнения клиническая и функциональная гетерогенность как когорты больных ХОБЛ, так и тяжелой БА, различающихся по выраженности симптомов респираторного заболевания, частоте и типу обострений, функции легких, структурным изменениям, местному и системному воспалению, а также ответу на терапию [2–6]. Однако до настоящего времени отсутствуют данные о молекулярных особенностях, которые, возможно, определяют клинико-функциональную гетерогенность больных, а также различный ответ на стандартную терапию.

Известно, что доминирующей иннервацией бронхолегочной системы человека являются холинергические парасимпатические нервные волокна. Так, ацетилхолин, являющийся медиатором парасимпатической нервной системы, посредством стимуляции М3-холинорецепторов вызывает бронхоспазм, гиперсекрецию слизи и вазодилатацию. М3-холинорецептор экспрессируется тучными клетками, макрофагами, стимулирует секрецию ими медиаторов воспаления, провоспалительных цитокинов, хемотрактантов [7, 8]. Бета-2-адренорецептор не только участвует в расслаблении гладких мышц бронхов, но и экспрессируется провоспалительными клетками – лимфоцитами, тучными клетками, макрофагами, эозинофилами, нейтрофилами. Его стимуляция приводит к реализации противовоспалительных эффектов [9].

Установлено, что мутации гена ADRB2 могут вносить вклад в развитие БА, а также оказывать влияние на терапевтический ответ пациентов. Аллель Glu27 ассоциирован с относительной резистентностью к агонист-индуцированной супрессии синтеза адренорецептора, что может повышать плотность рецептора на поверхности клеток и изменять ответ на проводимую терапию [10]. Значительно меньше известно о роли гена М3-холинорецептора в предрасположенности к обструктивным заболеваниям легких и бронхиальной гиперреактивности (БГР). Полиморфные варианты гена CHRM3 могут изменять терапевтический ответ пациентов на холинолитические препараты [11]. Довольно редкие

варианты (C261T, Ile87Ple) M3 кодирующего региона были обнаружены среди больных БА японской популяции [12], тогда как в исследовании с участием 46 больных с Мальты подобных закономерностей выявлено не было [13].

Исследования *in vivo* функциональной активности генов, вовлеченных в бронходилатационный ответ, являются единичными, что ограничивает использование этих данных в разработке терапевтических подходов к ведению тяжелых больных. Целью исследования была оценка экспрессии генов ADRB2 и CHRM3 в слизистой оболочке бронхов у пациентов с разными вариантами БА и ХОБЛ, различающимися по клинико-функциональным параметрам. Предположительно различия в экспрессии изучаемых генов могут служить основой различий клинических и функциональных показателей обследуемых групп больных.

Материалы и методы

Согласно поставленным целям проведено сравнительное исследование, протокол которого одобрен локальным комитетом по этике ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава г. Томска. Все пациенты соответствовали следующим общим критериям: мужчины и женщины в возрасте от 18 до 65 лет с высокой комплаентностью к проводимой терапии.

Были обследованы 6 групп пациентов: 10 больных ХОБЛ (9 мужчин и 1 женщина), из них 5 – с ХОБЛ и БГР (4 мужчины и 1 женщина) и 5 – с ХОБЛ без БГР (все мужчины); 10 пациентов с тяжелой БА, фенотип "brittle" (7 женщин и 3 мужчины); 14 больных тяжелой БА, фенотип "астма с фиксированной обструкцией" (2 мужчины и 12 женщин); 27 человек с персистирующей БА средней степени тяжести (3 мужчины и 24 женщины); 8 больных с персистирующей БА легкой степени (4 мужчины и 4 женщины).

Пациенты с диагнозом ХОБЛ соответствовали критериям заболевания, изложенным в документе GOLD, 2010 [14]. Критериями включения были показатели объема форсированного выдоха за 1-ю с (ОФВ₁) от 50 до 80 % от должных величин в сочетании с показателем отношения ОФВ₁ к форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) < 70 % в постбронходилатационном тесте, стаж курения – ≥ 10 пачек / лет. БГР оценивалась в тесте с метахолином (показатель ПК₂₀ ≤ 8 мг / мл).

Пациенты с диагнозом БА соответствовали критериям GINA, 2010 [15]. Для персистирующей астмы средней степени тяжести – на фоне базисной терапии в дозе 500–750 мкг в сутки по беклометазону дипропионату (БДП) – симптомы соответствуют легкой персистирующей БА (симптомы > 1 раза в неделю, но < 1 раза в день, ночные симптомы > 2 раз в месяц; ОФВ₁ или пиковая скорость выдоха (ПСВ) ≤ 80 %_{долж.}, вариабельность ПСВ – 20–30 %); для легкой персистирующей БА – на фоне базисной терапии в дозе 200 мкг в сутки по БДП – ОФВ₁ ≤ 80 %_{долж.}, вариабельность ПСВ < 30 %.

Пациенты с редкими фенотипами тяжелой БА соответствовали следующим критериям [2]:

- наличие у больного БА фенотипа "brittle", подтвержденного медицинскими документами (диагноз лабильной астмы должен быть подтвержден не ранее чем за 1 год до включения больного в исследование), суточной вариабельности уровня ПСВ с амплитудой > 40 % в течение > 50 % времени за 5-месячный период на фоне максимально интенсивного лечения с применением высоких доз ингаляционных глюкокортикостероидов – иГКС (прием флютиказона пропионата (ФП) ≥ 1 000 мкг в сутки), частых ингаляций бронхолитиков;
- наличие у больного фенотипа "астма с фиксированной обструкцией" (постоянная персистенция симптомов БА, низкие показатели функции внешнего дыхания (ФВД): ОФВ₁ < 60 %_{долж.}, ПСВ < 60 %_{долж.}), с эпизодами или без эпизодов внезапного ухудшения, требующих системной терапии ГКС (в дозе 5–20 мкг в сутки по преднизолону в течение не менее 1 года), которая приводит к неполному ответу.

В работе использовались следующие критерии исключения: недавнее или текущее обострение основного заболевания, наличие тяжелой сопутствующей патологии в стадии декомпенсации, которая, по мнению исследователя, может повлиять на результаты исследования, невозможность выполнения и потенциальная опасность от проведения функциональных тестов и инструментального обследования (по мнению врача-исследователя).

Все пациенты прошли рутинное клиническое обследование. Оценка функциональных тестов, уровня БГР к метахолину проведена на оборудовании *Master Scope (Erich Jaeger GmbH, Германия)* согласно условиям проведения теста *ATS Standardization of Spirometry, 1995*.

С целью получения образцов ткани бронхов выполнялась бронхофиброскопия (БФС) по стандартной методике гибким фиброскопом BF1T20 (*Olympus Corporation, Япония*) в условиях эндоскопического кабинета вне обострения основного заболевания. До и после проведения БФС все пациенты подвергались тщательному клинико-функциональному обследованию: за 40 мин до БФС и сразу после окончания исследования всем больным проводилась ингаляция 1 мл Беродуала через компрессорный небулайзер. Биоптаты (2 фрагмента) получали со слизистой оболочки среднедолевого бронха правого легкого методом щипковой биопсии.

Молекулярные методы. Образцы ткани бронха для молекулярного исследования сразу после забора помещались в эппендорфы и замораживались в жидком азоте при температуре –196 °С, где они хранились вплоть до момента выделения РНК. Выделение РНК производилось методом кислотно-фенольной экстракции с помощью реактива Три-регент (*Molecular Research Center Inc., США*). Далее выполнялась постановка реакции обратной транскрипции с целью накопления кДНК (комплект для обратной транскрипции РНК "Реверта", ООО "Амплисенс" ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Синте-

зированную кДНК в дальнейшем использовали для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР). Генотипирование генов ADRB2, CHRM3, GAPDH осуществляли с помощью ПЦР в реальном времени, используя коммерческие наборы, разработанные и произведенные ООО "Биосан", г. Новосибирск. Определение уровня экспрессии проводили путем сравнения пороговых уровней флюоресценции маркерного гена и гена глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (GAPDH), выражая в относительных величинах как 2^{-ddCt} .

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакета программ *Statistica for Windows v. 6.0*. Для сравнения показателей в 3 несвязанных группах проводили дисперсионный анализ ANOVA Крускала–Уоллиса. Степень взаимосвязи между признаками оценивали, вычисляя коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Проводился многофакторный дисперсионный анализ изучаемых параметров. Данные представлены как среднее и 95%-ный доверительный интервал (ДИ). Разницу значений считали значимой при $p < 0,05$.

Результаты

Получены образцы слизистой оболочки среднедолового бронха правого легкого 59 пациентов с БА (10 – с тяжелой БА, фенотип "brittle"; 14 – с тяжелой БА, фенотип "астма с фиксированной обструкцией"; 27 – с персистирующей астмой средней степени тяжести; 8 – с персистирующей астмой легкой степени), а также 10 больных ХОБЛ с наличием и отсутствием БГР. Клинико-функциональная характеристика пациентов представлена в таблице.

Пациенты с тяжелой астмой имели достоверно большее количество дневных и ночных симптомов, а также чаще нуждались в препаратах "скорой помощи". Показатели ФВД (ОФВ₁, ПСВ) больных с тяжелой астмой также были статистически значимо ниже этих параметров больных со среднетяжелой и легкой БА. Тест на БГР был положительным у всех больных БА (проводился при условии исходных параметров ОФВ₁ ≥ 60 %_{долж.}), и значительно выше – у пациентов с тяжелой БА. Все больные тяжелой БА (фенотип "астма с фиксированной обструкцией") получали терапию системными ГКС (средняя суточная доза – 8,2 мг в сутки по преднизолону; 95%-ный ДИ – 6,2–10,2). Суточная вариабельность ПСВ среди пациентов с фенотипом "brittle" тяжелой БА составила 44,4 % (95%-ный ДИ – 42,1–46,7), что отражает лабильность болезни; вызовы скорой помощи среди данных больных составили 4,2 раз в год (95%-ный ДИ – 3,5–4,6). Обострения заболевания чаще встречались среди тяжелых больных, приводя к госпитализации в 50 % случаев. Все пациенты с легкой, среднетяжелой и тяжелой БА фенотипа "brittle" имели атопию, подтвержденную кожными аллерготестами и высоким уровнем сывороточного IgE, тогда как у пациентов с тяжелой БА фенотипа "астма с фиксированной обструкцией" уровень IgE значительно ниже 92,2 МЕ / мл (95%-ный ДИ – 39,8–144,5). Наиболее частыми триггерами во всех обследованных группах были физическая нагрузка, инфекции респираторного тракта и аллергены.

Пациенты с ХОБЛ характеризовались менее продолжительным стажем заболевания и большим возрастом, все больные ХОБЛ были курильщиками (индекс курения – 33,7 (95%-ный ДИ – 24,9–42,5).

Таблица
Клинико-функциональная характеристика пациентов

Показатели	Группы пациентов с БА				ХОБЛ (n = 10)		p
	Легкая БА (n = 8)	Среднетяжелая БА (n = 27)	Тяжелая БА		с БГР (n = 5)	без БГР (n = 5)	
			фенотип "астма с фиксированной обструкцией" (n = 14)	фенотип "brittle" (n = 10)			
Возраст, лет	41,8 (24,1–59,5)	42,7 (37,6–47,7)	54,3 (49,2–59,4)	43,4 (31,6–55,2)	55,8 (50,9–60,7)	54,6 (48,7–60,5)	0,03
Продолжительность заболевания, лет	14,6 (6,2–23,0)	8,2 (5,4–10,9)	12,1 (8,2–16,1)	15,5 (7,4–23,6)	7,2 (2,1–12,4)	3,8 (2,4–5,2)	0,03
Среднее количество дневных симптомов в сутки*	0,2 (0,1–0,3)	1,5 (1,2–1,9)	3,7 (3,4–4,0)	3,7 (2,8–4,6)	–	–	< 0,001
Среднее количество ночных симптомов в сутки*	0,02 (–0,01–0,04)	0,1 (0,09–0,2)	2,3 (1,9–2,7)	2,1 (1,5–2,6)	–	–	< 0,001
Количество эпизодов использования КДБА в сутки*	0,2 (0,1–0,3)	1,0 (0,7–1,2)	8,3 (6,0–10,6)	5,9 (3,3–8,4)	–	–	< 0,001
Количество обострений в течение последних 12 мес.	0,5 (0,1–1,0)	2,3 (1,5–3,12)	4,0 (3,0–4,1)	3,6 (2,6–4,7)	2,0 (0,5–3,5)	1,8 (0,8–2,8)	< 0,001
ОФВ ₁ , % _{долж.}	84,5 (79,9–89,1)	74,5 (70,8–78,3)	57,1 (50,7–63,5)	55,1 (45,5–64,6)	64,0 (55,8–72,2)	62,3 (55,4–69,2)	< 0,001
ПК ₂₀ в тесте с метахолином, мг / мл**	2,8 (1,6–4,0)	3,4 (1,7–5,1)	**	0,2 (–0,2–0,7)	2,2 (0,6–3,9)***	≥ 16	< 0,001

Примечание: КДБА – короткодействующие β_2 -агонисты; * – за последние 7 дней, только для больных БА; ** – тест выполнялся только больными БА с пребронходилатационными показателями ОФВ₁ ≤ 60 %_{долж.}; *** – тест выполнялся только больными ХОБЛ с пребронходилатационными показателями ОФВ₁ ≤ 50 %_{долж.}

Оценка одышки по шкале MRC (*Medical Research Council Dyspnoea Scale*) составила 1,8 балла (95%-ный ДИ – 1,1–2,5) (2,4 – для пациентов с БГР и 1,2 – без БГР; $p = 0,08$). Интенсивность кашля оценивалась по Шкале симптомов больных ХОБЛ и составила 1,7 балла (95%-ный ДИ – 1,2–2,2) (1,6 – для пациентов с БГР и 1,8 – без БГР; $p = 0,49$). Все больные ХОБЛ получали терапию в соответствии с рекомендациями, изложенными в документе GOLD, 2010 (комбинация коротко- и длительнодействующего бронходилататора), иГКС пациенты с ХОБЛ до включения в исследование не получали. В полученных биоптатах слизистой оболочки бронхов проведен анализ экспрессии генов β_2 -адренорецептора и М3-холинорецептора. Установлена повышенная экспрессия гена ADRB2 у пациентов с тяжелой БА и ХОБЛ по сравнению с больными со среднетяжелой и легкой БА (рис. 1)

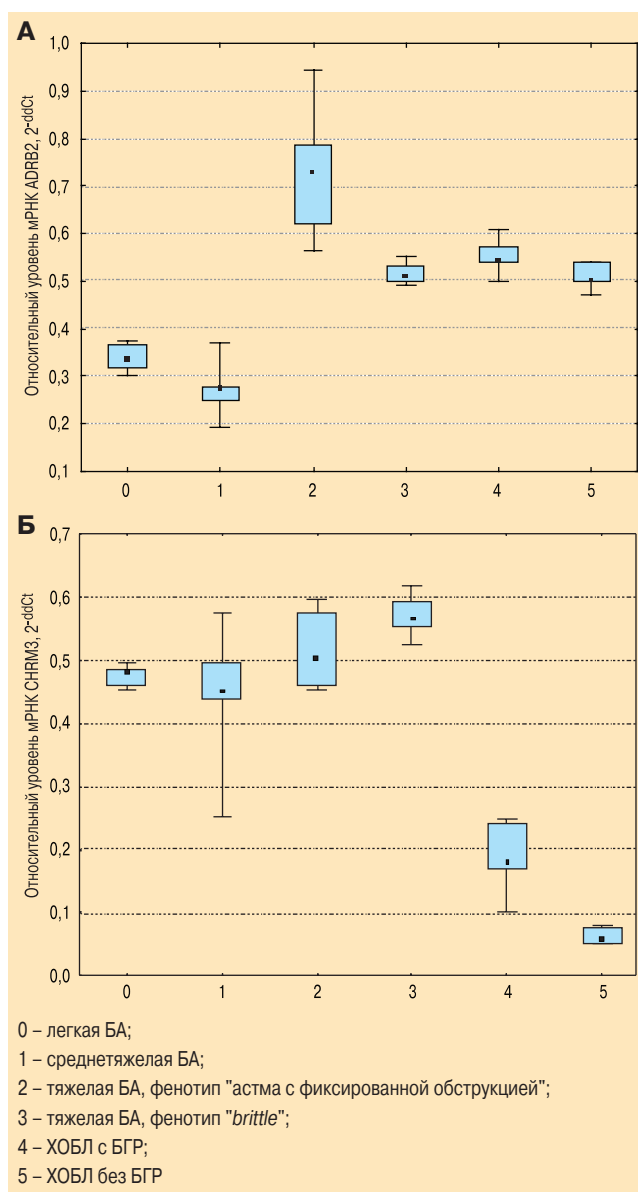


Рис. 1. Относительный уровень мРНК гена β_2 -адренорецептора (А; $p < 0,0001$), гена М3-холинорецептора (Б; $p < 0,0001$) в слизистой оболочке бронхов (дисперсионный анализ ANOVA Крускала–Уоллиса). Данные представлены как *median / quart / range*

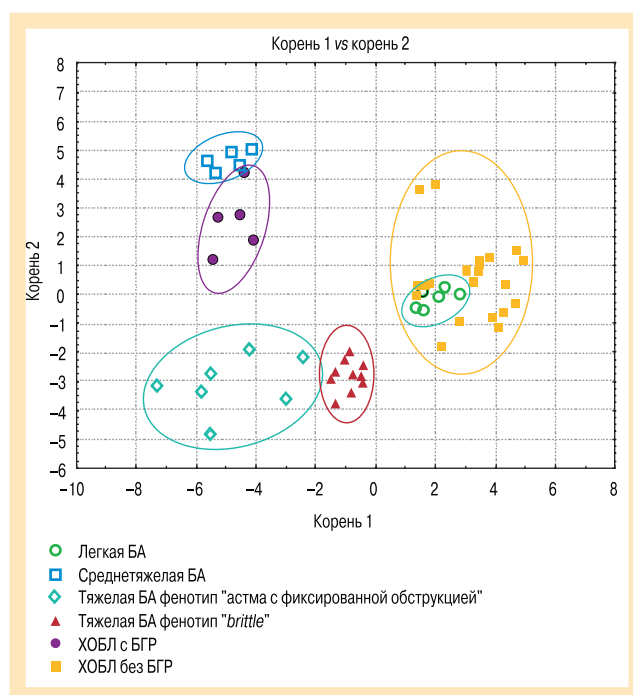


Рис. 2. Рассеяние значений дискриминантной функции при сравнении обследованных групп больных по показателям уровня экспрессии генов ADRB2 и CHR3
 Примечание: λ Уилкса = 0,011; $F(10,102) = 88,572$; $p < 0,0001$; для переменных мРНК ADRB2 λ Уилкса = 0,13; $p < 0,0001$; для мРНК CHR3 λ Уилкса = 0,082; $p < 0,0001$.

Уровень мРНК гена β_2 -адренорецептора был статистически значимо выше в группе больных тяжелой БА фенотипа "астма с фиксированной обструкцией". Экспрессия ADRB2 в группах больных ХОБЛ и тяжелой БА фенотип "brittle" была схожей, несмотря на их значительные клинико-функциональные различия. Экспрессия гена CHR3 была в целом ниже в группе пациентов с ХОБЛ по сравнению с больными астмой. Уровень мРНК гена М3-холинорецептора был различен у пациентов с ХОБЛ с наличием и отсутствием БГР.

Для оценки значимости вклада уровня экспрессии изучаемых генов в формирование различий между группами больных БА и ХОБЛ проведен линейный дискриминантный анализ. Было установлено, что оба гена (ADRB2 и CHR3) являются статистически значимыми для классифицирования фенотипов тяжелой БА и ХОБЛ (рис. 2).

Обсуждение

В течение последних 10 лет постоянно предпринимаются попытки выделить клинико-функциональные фенотипы среди больных как ХОБЛ, так и БА, основываясь на различных характеристиках пациентов, включая пол, возраст возникновения заболевания, частоту обострений, функцию легких, структурно-морфологические особенности воспаления.

Впервые успешная классификация тяжелой БА была выполнена членом экспертной группы Европейского респираторного общества по сложной астме S.Holgate в монографии "Difficult asthma" в 1999 г. [2]. Необходимо отметить, что данная клиническая

группировка остается актуальной и на сегодняшний день. Публикация монографии "*Difficult asthma*" в 1999 г. акцентировала внимание научной общественности на проблеме тяжелой астмы в целом и на необходимости более точной патофизиологической характеристики фенотипов болезни в частности.

Попытки группировки тяжелой БА по клиническим признакам не прекращались. Так, в 2005 г. *Sally E. Wenzel* опубликовала обзорное исследование, в котором были проанализированы все статьи по астме в рецензируемых журналах за последние 20 лет; в данной работе определены 13 фенотипов астмы [16]. В 2010 г. проведен неконтролируемый иерархический кластерный анализ данных 726 пациентов из базы данных *Severe Asthma Research Program* (Программа исследования тяжелой астмы). Пациенты, участвующие в данной программе, имели детализированную фенотипическую характеристику [17]. В результате было выявлено 5 групп (фенотипов). Однако и в данном исследовании, выполненном на высоком доказательном уровне, все кластеры включали пациентов, которые соответствовали определению "терапевтически резистентная астма", по критериям ATS, что доказывает клиническую гетерогенность тяжелой астмы и необходимость новых подходов к идентификации фенотипов тяжелой астмы, используя молекулярные или генетические паттерны [18].

ХОБЛ, как и БА, также характеризуется клинической и функциональной гетерогенностью. При этом выделяются такие фенотипы ХОБЛ, как бронхитический, эмфизематозный, с частыми обострениями, ХОБЛ с БГР и некоторые др. [4]. В настоящем исследовании мы ограничились сравнительной характеристикой 2 фенотипов ХОБЛ, различающихся по такому патофизиологическому параметру, как БГР. С одной стороны, БГР является признаком, сближающим БА и ХОБЛ, а с другой – БГР, являясь одним из ведущих факторов риска формирования ХОБЛ, способна модифицировать ее течение [19, 20]. В частности, вариант ХОБЛ с БГР характеризуется более ранним развитием и тяжелым течением, частыми обострениями и быстро прогрессирующими обструктивными нарушениями, что, в конечном счете, обуславливает более высокую смертность в этой группе больных [21]. В наших предыдущих исследованиях показано, что даже при нетяжелых функциональных нарушениях ($ОФВ_1 > 50\%$) БГР у больных ХОБЛ ассоциируется с большей выраженностью одышки, более частыми обострениями, меньшей толерантностью к физической нагрузке и более низкими показателями качества жизни [19]. Следует отметить и достаточно высокую частоту фенотипа ХОБЛ с БГР, составляющую 55–87% [19, 22, 23].

Ранее нами были описаны морфологические и молекулярные особенности фенотипов тяжелой резистентной к терапии БА [24–26]. В данном исследовании мы дополнили группы пациентов с БА и сравнили показатели с больными ХОБЛ.

Было обнаружено, что экспрессия гена *ADRB2* статистически значимо выше в группе больных тя-

желой БА и ХОБЛ, несмотря на значительно выраженную бронхиальную обструкцию, наблюдаемую у этих пациентов, в сравнении с больными БА легкого и среднетяжелого течения. Известно, что кратковременное воздействие β_2 -агонистов может транзитивно повышать экспрессию генов и увеличивать синтез рецепторных белков. Продолжительное влияние этих средств способно приводить к уменьшению концентрации β_2 -адренорецепторов на клеточных мембранах [27]. Десенситизация рецепторов при длительном повторном применении β_2 -агонистов сопровождается снижением синтеза рецепторов, их интернализацией (секвестрацией) и деградацией, что характеризуется уменьшением их количества на клеточной мембране. Известно, что ГКС предупреждают развитие этого процесса и увеличивают синтез рецепторов в клетках. Это может объяснять полученные нами результаты максимального уровня мРНК гена β_2 -адренорецептора у пациентов с тяжелой БА фенотипа "астма с фиксированной обструкцией", которые получали оральные ГКС. Также эта гипотеза подтверждается и выявленной положительной корреляционной связью между дозой и ГКС и короткодействующих β_2 -агонистов, получаемых пациентами с БА, и уровнем мРНК гена *ADRB2* ($r = 0,70$ и $0,65$ соответственно; $p < 0,001$).

С другой стороны, различия в экспрессии гена β_2 -адренорецептора у обследованных больных могут объясняться возможным генетическим полиморфизмом. Существуют исследования, показавшие взаимосвязь между полиморфными вариантами гена *ADRB2* и увеличением [28] или снижением [29] сродства рецептора к агонисту, что может оказывать влияние на терапевтический ответ больных.

Предыдущие исследования вклада генетического полиморфизма *ADRB2* в патогенез ХОБЛ неоднозначны [30, 31]. Авторы предполагают, что ген *ADRB2* не является ведущим геном бронходилатационного ответа при ХОБЛ, в отличие от БА [31]. Полученные нами результаты подтверждают это предположение, т. к. в исследовании не выявлено существенных различий в экспрессии гена β_2 -адренорецептора среди подгрупп больных ХОБЛ с наличием и отсутствием БГР.

На сегодняшний день отсутствуют точные данные о механизмах, лежащих в основе БГР при ХОБЛ, однако предполагают, что одним из возможных факторов является активация парасимпатического влияния на гладкие мышцы бронхов, т. к. применение антихолинергических препаратов приводит к улучшению показателей бронхиальной проходимости, легочных объемов и снижению БГР у пациентов с ХОБЛ [32–34]. Наши результаты позволяют предположить, что именно различия в экспрессии гена *CHRM3* лежат в основе клинических фенотипов ХОБЛ с наличием и отсутствием БГР.

Следует учитывать, что не всегда высокая экспрессия гена напрямую ассоциирована с плотностью белкового продукта на поверхности клетки. Описан ряд полиморфных вариантов гена *ADRB2*, способных оказывать влияние на посттранскрипционные

механизмы регуляции, такие как регуляция трансляции рецепторной мРНК [35] и стабильность мРНК [36].

Таким образом, наше исследование подтверждает важность ADRB2 в развитии фенотипов тяжелой БА, тогда как ген М3-холинорецептора вносит важный вклад в формирование клинических вариантов ХОБЛ. Полученные новые данные могут служить основой для дальнейшего исследования функции β_2 -адренорецептора и М3-холинорецептора у пациентов с различными фенотипами БА и ХОБЛ с позиции объяснения клинической и терапевтической вариабельности заболеваний, что в конечном счете позволит идентифицировать таргетные мишени фенотип-специфичной (персонализированной) терапии.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ФЦП ГК № 02.740.11.0716 и 16.512.11.2112.

Литература

- Lopez D., Shibuya K., Rao C. et al. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. *Eur. Respir. J.* 2006; 27 (2): 397–412.
- Holgate S. *Difficult asthma*. London: Dunitz Martin Ltd; 1999.
- Аверьянов А.В., Чучалин А.Г., Поливанова А.Э. и др. Фенотипы больных хронической обструктивной болезнью легких. *Тер. арх.* 2009; 3: 9–15.
- Garcia-Aymerich J., Agustí A., Barbera J. A. et al. Phenotypic heterogeneity of chronic obstructive pulmonary disease. *Arch. Bronconeumol.* 2009; 45 (3): 129–138.
- Огородова Л.М., Кобякова О.С., Петровская Ю.А. и др. Сложная астма. *Пульмонология* 2001; 1: 94–100.
- Огородова Л.М., Кобякова О.С., Петровский Ф.И. и др. Клинико-функциональная характеристика фенотипов тяжелой неконтролируемой бронхиальной астмы. *Клин. мед.* 2006; 2: 24–27.
- Sato E., Koyama S., Okubo Y. et al. Acetylcholine stimulates alveolar macrophages to release inflammatory cell chemotactic activity. *Am. J. Physiol.* 1998; 274: 970–979.
- Mita Y., Dobashi K., Suzuki K. et al. Induction of muscarinic receptor subtypes in monocytic / macrophagic cells differentiated from EoL-1 cells. *Eur. J. Pharmacol.* 1996; 297: 121–127.
- Lambrecht B.N., Hoogsteden H.C., Diamant Z., ed. *The immunological basis of asthma (Lung Biology in Health and Disease. Vol. 174.)*. New York: Marcel Dekker; 2003.
- Hall I.P. Beta2-adrenoceptor polymorphisms and asthma. *Clin. Exp. Allergy* 1999; 29 (9): 1151–1154.
- Sarika G.S., Awasthi S. Pharmacogenomics of pediatric asthma. *Indian J. Hum. Genet.* 2010; 16 (3): 111–118.
- Yamamoto T., Yamashita N., Kuwabara M. et al. Mutation screening of the muscarinic M2 and M3 receptor genes in asthmatics, outgrow subjects, and normal controls. *Ann. Genet.* 2002; 45: 109–113.
- Fenech A.G., Ebejer M.J., Felice A.E. et al. Mutation screening of the muscarinic M2 and M3 receptor genes in normal and asthmatic subjects. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 133: 43–48.
- The Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2010. Available from: <http://www.goldcopd.org>
- The Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2010. Available from: <http://www.ginasthma.org>
- Wenzel S. Severe asthma in adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 172: 149–160.
- Moore W.C., Meyers D.A., Wenzel S.E. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the severe asthma research program. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 181: 315–323.
- Bradding P., Green R.H. Subclinical phenotypes of asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 10 (1): 54–59.
- Трофименко И.Н., Черняк Б.А. Бронхиальная гиперреактивность как фенотипическая характеристика хронической обструктивной болезнью легких. *Пульмонология* 2011; 4: 49–53.
- De Marco R., Accordini S., Marcon A. et al. Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 183 (7): 891–897.
- Hospers J.J., Postma D.S., Rijcken B. et al. Histamine airway hyper-responsiveness and mortality from chronic obstructive pulmonary disease: a cohort study. *Lancet* 2000; 356: 1313–1317.
- Kanner R.E., Connett J.E., Altose M.D. et al. Gender difference in airway hyperresponsiveness in smokers with mild COPD. The Lung Health Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 150 (4): 956–961.
- Yang S.C., Lin B.Y. Comparison of airway hyperreactivity in chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Chang Gung Med. J.* 2010; 33: 515–523.
- Selivanova P.A., Kulikov E.S., Kozina O.V. et al. Morphological and molecular characteristics of "difficult" asthma. *J. Asthma* 2010; 47 (3): 269–275.
- Геренг Е.А., Суходоло И.В., Огородова Л.М. и др. Роль клеточных и молекулярных мишеней в формировании различных паттернов воспаления при гетерогенных фенотипах тяжелой бронхиальной астмы. *Пульмонология* 2009; 5: 78–82.
- Огородова Л.М., Селиванова П.А., Геренг Е.А. и др. Патоморфологическая характеристика нестабильной бронхиальной астмы (фенотип brittle). *Тер. арх.* 2008; 3: 39–43.
- Barnes P.J. Beta-adrenergic receptors and their regulation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152 (3): 838–860.
- Fraser C.M., Chung F.Z., Wang C.D. et al. Site-directed mutagenesis of human beta-adrenergic receptors: substitution of aspartic acid-130 by asparagine produces a receptor with high-affinity agonist binding that is uncoupled from adenylate cyclase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85 (15): 5478–5482.
- Dishy V., Landau R., Sofowora G.G. et al. Beta2-adrenoceptor Thr164Ile polymorphism is associated with markedly decreased vasodilator and increased vasoconstrictor sensitivity in vivo. *Pharmacogenetics* 2004; 14 (8): 517–522.
- Hizawa N., Makita H., Nasuhara Y. et al. Beta2-adrenergic receptor genetic polymorphisms and short-term bronchodilator responses in patients with COPD. *Chest* 2007; 132 (5): 1485–1492.
- Kim W.J., Hersh C.P., DeMeo D.L. et al. Genetic association analysis of COPD candidate genes with bronchodilator responsiveness. *Respir. Med.* 2009; 103 (4): 552–557.
- O'Donnell D.E., Fluge T., Gerken F. et al. Effects of tiotropium on lung hyperinflation, dyspnoea and exercise tolerance in COPD. *Eur. Respir. J.* 2004; 23 (6): 832–840.
- Barnes P.J., Belvisi M.G., Mak J.C. et al. Tiotropium bromide (Ba 679 BR), a novel long-acting muscarinic antagonist for the treatment of obstructive airways disease. *Life Sci.* 1995; 56 (11–12): 853–859.

34. Трофименко И.Н., Непомнящих Н.В., Черняк Б.А. Влияние тиотропия бромида и формотерола на гиперреактивность бронхов при ХОБЛ. В кн.: XXI Национальный конгресс по болезням органов дыхания: Сборник трудов. М.: Дизайн Пресс; 2011. 97.
35. Subramaniam K., Chen K., Joseph K. et al. The 3'-untranslated region of the beta2-adrenergic receptor mRNA regulates receptor synthesis. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (26): 27108–27115.
36. Moore P.E. Exploration of the beta2-adrenergic receptor regulatory regions: the next step in the holy grail of asthma pharmacogenetics research. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2008; 294 (2): L187– L189.

Информация об авторах

Огородова Людмила Михайловна – д. м. н., проф., член-корр. РАМН, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава РФ; тел.: (3822) 53-23-04; e-mail: lm-ogorodova@mail.ru

Черняк Борис Анатольевич – д. м. н., проф., зав. кафедрой клинической аллергологии и пульмонологии ГБОУ ДПО ИГМАПО Минздрава РФ; тел.: 8-902-568-78-70; e-mail: bores@angara.ru

Козина Ольга Владимировна – д. м. н., врач лаборатории клинической иммунологии и диагностики СПИД ГБУЗ "Камчатский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями"; тел.: (4152) 42-17-22; e-mail: ovkozina2006@rambler.ru

Фрейдин Максим Борисович – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН; тел.: (3822) 42-09-56; e-mail: mfreidin@medgenetics.ru

Трофименко Ирина Николаевна – к. м. н., ассистент кафедры клинической аллергологии и пульмонологии ГБОУ ДПО ИГМАПО Минздрава РФ; тел.: 8-914-877-80-96, e-mail: tin11@mail.ru

Куликов Евгений Сергеевич – к. м. н., ассистент кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава РФ; тел.: 8-903-951-63-01; e-mail: evgeny.s.kulikov@gmail.com

Селиванова Полина Александровна – к. м. н., ассистент кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава РФ; тел.: 8-903-951-63-01; e-mail: p.selivanova@mail.ru

Поступила 10.05.12

© Коллектив авторов, 2013

УДК [616.24-036.12+616.248]-056.7