

Г.Ф.Корытина<sup>1</sup>, Л.З.Ахмадишина<sup>1</sup>, Д.Г.Ямбаева<sup>1</sup>, Ш.З.Загидуллин<sup>2</sup>, Т.В.Викторова<sup>1,2</sup>

## Ассоциация полиморфных вариантов генов ферментов матричных металлопротеаз и антипротеаз с развитием и тяжестью течения хронической обструктивной болезни легких

1 – Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа;

2 – Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

*G.F.Korytina, L.Z.Akhmadishina, D.G.Yambaeva, Sh.Z.Zagidullin, T.V.Viktorova*

## Association of polymorphic variants of matrix metalloproteinase and antiprotease genes with development and severity of chronic obstructive pulmonary disease

### Summary

To evaluate a role of polymorphic variants of metalloproteinase and protease genes for hereditary susceptibility to COPD and its severity, we analyzed polymorphic loci of MMP1, MMP9, MMP12, PI, and AACT genes in COPD patients ( $n = 318$ ) and healthy persons ( $n = 319$ ) living at the Bashkortostan Republic. Results showed that frequency of genotypes and alleles of G(-1607)GG gene MMP1, C(-1562)T gene MMP9, A(-82)G gene MMP12, and Ala 15 Thr gene AACT did not differ in COPD patients and healthy subjects. The Z- and S-mutations of the PI gene were also similar in both the groups. The heterozygous GA genotype of G1237A locus in the 3'-non-translated region of PI gene was associated with COPD occurrence (OR = 2.09; 95 % CI: 1.15–3.81). To determine polymorphic variants associated with severity of clinical course and age of the disease manifestation, a comparative analysis of rates of genotypes and alleles was performed in patients with different COPD stages and of different age. The stage IV COPD patients significantly more often carried rare T allele in C(-1562)T locus of the MMP9 gene (15.89 % vs 8.38 %;  $\chi^2 = 7.804$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.005$ ; OR = 2.06; 95 % CI: 1.22–3.49). Individuals with rare TT genotype of MMP9 gene were found only among the stage IV COPD patients (3.97 % vs 0 %;  $\chi^2 = 4.78$ ;  $p = 0.029$ ;  $p_{cor} = 0.058$ ). Moreover, analysis of this locus in patients with early manifestation of COPD (younger the 55 yrs) revealed significantly more frequent rate of T allele in patients with stage IV COPD compared to patients of the same age but less severe COPD ( $\chi^2 = 5.26$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.022$ ).

### Резюме

С целью оценки роли полиморфных вариантов генов матричных металлопротеаз и антипротеаз в формировании наследственной предрасположенности к развитию ХОБЛ и тяжести течения заболевания был проведен анализ полиморфных локусов генов MMP1, MMP9, MMP12, PI и ААСТ в группах больных ХОБЛ ( $n = 318$ ) и здоровых индивидов ( $n = 319$ ), проживающих в Республике Башкортостан. Анализ полученных результатов показал, что частоты генотипов и аллелей локусов G(-1607)GG гена MMP1, C(-1562)T гена MMP9, A(-82)G гена MMP12, Ala 15 Thr гена ААСТ статистически достоверно не различаются в группах больных ХОБЛ и здоровых индивидов. Частоты Z и S мутаций гена PI также сходны в обеих группах. Выявлена ассоциация гетерозиготного генотипа GA локуса G1237A в 3'-нетранслируемой области гена PI с развитием ХОБЛ (отношение риска (ОР) = 2,09, 95%-ный доверительный интервал (ДИ) – 1,15–3,81). С целью выявления полиморфных вариантов, ассоциированных с тяжестью клинического течения и возрастом манифестации заболевания был проведен сравнительный анализ частот генотипов и аллелей изученных локусов у больных с разными стадиями ХОБЛ и в разных возрастных группах. Показано, что среди больных с 4-й стадией ХОБЛ достоверно чаще встречаются носители редкого аллеля T локуса C(-1562)T гена MMP9 (15,89 % против 8,38 %;  $\chi^2 = 7,804$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,005$ ; ОР = 2,06; 95%-ный ДИ – 1,22–3,49). Только среди больных с 4-й стадией ХОБЛ были выявлены индивиды с редким генотипом TT гена MMP9 (3,97 % против 0 %;  $\chi^2 = 4,78$ ;  $p = 0,029$ ;  $p_{cor} = 0,058$ ). Кроме того, анализ данного локуса у больных с ранней манифестацией ХОБЛ (до 55 лет) показал статистически достоверное увеличение частоты аллеля T в группе пациентов с тяжелой 4-й стадией ХОБЛ по сравнению с больными в той же возрастной группе, но с более легкими стадиями ХОБЛ ( $\chi^2 = 5,26$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,022$ ).

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – многофакторное заболевание дыхательной системы, характеризующееся прогрессирующим ограничением скорости воздушного потока, вызванное обструкцией периферических дыхательных путей (хроническим бронхитом) и деструкцией легочной паренхимы (эмфиземой). ХОБЛ является одной из важнейших причин заболеваемости и смертности во всем мире и приводит к значительному экономическому и социальному ущербу [1, 2].

Главным фактором риска развития ХОБЛ считается курение. Существует прямая связь между коли-

чеством выкуриваемых сигарет, манифестацией ХОБЛ и тяжестью течения заболевания. Однако не у всех курильщиков развивается ХОБЛ. Факторами риска ХОБЛ также считаются производственное пылевое и химическое загрязнение, высокий уровень загрязнения городского воздуха, частые инфекции дыхательных путей в детстве и некоторые другие. Исследования семейных случаев ХОБЛ и близнецовый метод позволили показать, что в манифестации заболевания важную роль играет комплексное взаимодействие генетических и внешнесредовых факторов [1–4].

Дефицит  $\alpha_1$ -антитрипсина, обусловленный несколькими мутациями в гене PI (*protease inhibitor*), до сих пор считается единственным хорошо изученным генетическим фактором риска ранней ХОБЛ, однако мутации в этом гене настолько редки, что являются причиной только 2 % случаев данного заболевания. В генетике ХОБЛ к сегодняшнему дню сформировалась гипотеза вовлеченности нескольких генов, каждый из которых вносит незначительный вклад в развитие симптомов заболевания [4–6]. Во 2-й половине XX в. широкое распространение получила концепция нарушения баланса в системе протеолиза–антипротеолиза как одной из причин формирования эмфиземы легких. Нарушение равновесия между протеолитическими ферментами и их ингибиторами, обусловленное врожденным дефицитом антипротеаз, окислительным стрессом или влиянием табачного дыма, может при определенных условиях привести к избыточному действию протеолитических ферментов, разрушению тончайших межальвеолярных перегородок и слиянию отдельных альвеол в более крупные эмфизематозные полости с постепенным уменьшением общей дыхательной поверхности легких [1–5].

Альвеолярные макрофаги, эпителиальные клетки и нейтрофилы выделяют целый спектр протеиназ. К классу протеолитических ферментов относятся семейство матричных металлопротеаз (ММР), нейтрофильная эластаза, трипсин и некоторые другие [5–7]. Матричные металлопротеазы – семейство протеолитических ферментов, играющих важную роль в процессах ремодуляции и репарации легочной ткани при воспалительных реакциях. Металлопротеазы являются нормальными компонентами соединительной ткани и клеточных мембран. Характер экспрессии матричных металлопротеаз имеет много общего с экспрессией классических реактантов острой фазы воспаления. Их активность возрастает во время воспалительной реакции. Многие из них принимают непосредственное участие в воспалении, регулируя секрецию цитокинов, шеддинг рецепторов, миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [7, 8]. В организме активность металлопротеаз контролируется естественными тканевыми ингибиторами металлопротеаз (ТИМР), которые часто продуцируются одновременно и рядом с самими металлопротеазами. Одной из главных причин развития склероза и фиброза является нарушение баланса между синтезом и деградацией компонентов внеклеточного матрикса, который, в свою очередь, зависит от равновесия между металлопротеазами и их тканевыми ингибиторами [8–10]. В некоторых исследованиях клеток животных и человека было показано, что ММР1 (интерстициальная коллагеназа), ММР12 (эластаза макрофагов) и ММР9 (желатиназа В, коллагеназа IV типа) играют важную роль в воспалении дыхательных путей и развитии эмфиземы легких [11, 12].

С целью выявления аллелей и генотипов, ассоциированных с предрасположенностью к формированию ХОБЛ, проанализирован ряд мутаций и поли-

морфизмов генов, кодирующих протеолитические (ММР1, ММР9, ММР12) и антипротеолитические (PI и ААСТ) ферменты в группах больных ХОБЛ и здоровых лиц, проживающих в Республике Башкортостан.

## Материалы и методы

В работе использованы образцы ДНК 318 больных ХОБЛ, из них 258 мужчин (81,13 %) и 60 женщин (18,87 %), находившихся на стационарном лечении в больницах г. Уфы в период 2002–2005 гг. Диагноз ХОБЛ был установлен в соответствии с международной классификацией *Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD)* пересмотра 2003 г. [1]. Средний возраст больных –  $61,98 \pm 11,65$  года, индекс курения (ИК) –  $33,85 \pm 21,35$  пачки / лет. Внутри общей выборки больных ХОБЛ выделяли группы с различными стадиями заболевания (согласно GOLD, 2003 г.) [1]. В контрольную группу вошли образцы ДНК 319 здоровых индивидов, не состоящих в родстве, жителей г. Уфы, отобранных по полу (256 мужчин (80,25 %) и 63 женщины (19,75 %)), возрасту ( $56,12 \pm 8,57$  года), статусу курения (ИК =  $31,45 \pm 13,51$  пачки / лет), без хронических заболеваний в анамнезе, включая патологию дыхательной системы и аллергические заболевания.

## Проведение ПЦР-ПДРФ-анализа

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием фенольно-хлороформной экстракции. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) изучали полиморфные локусы промоторных областей генов металлопротеаз: G(-1607)GG гена ММР1, C(-1562)T гена ММР9, A(-82)G гена ММР12, а также полиморфных локусов гена локуса  $\alpha_1$ -антитрипсина (PI) Glu342Lys, Glu264Val, G1237A в 3'-области гена и локуса Ala 15 Thr гена антихимотрипсина (ААСТ). ПЦР проводили на амплификаторе производства компании "ДНК-технология" в стандартных условиях с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* ("Сибэнзим", Россия). Последовательности олигонуклеотидных праймеров и методы идентификации полиморфных аллелей изученных локусов были опубликованы ранее [5, 6, 11]. Гидролиз амплифицированных фрагментов ДНК проводили соответствующей рестриктазой фирмы "Сибэнзим" (MroXI, SphI, PvuI, TaqI, HinfI) в стандартных условиях. Результаты амплификации и рестрикции оценивали при помощи вертикального электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле. По окончании электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия (0,1 мкг/мл) в течение 15 мин и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Для идентификации аллелей использовали 100 bp DNA ladder – маркер молекулярного веса с шагом 100 п. н. ("Сибэнзим").

## Статистическая обработка результатов

Частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов, соответствие распределения частот генотипов

равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2$ ) определяли по стандартным формулам. Достоверность различий в распределении частот аллелей и генотипов между группами больных и здоровых индивидов оценивали по тесту  $\chi^2$  при помощи программы BIOSTAT (*Primer of Biostatistics version 4.03*). Ассоциацию определенных генотипов изученных генов с развитием ХОБЛ выявляли, сравнивая выборки больных и здоровых индивидов по частоте 1 признака с использованием критерия  $\chi^2$ . Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Для исключения ошибки 1-го типа вводили поправку на множественность сравнений: значение  $p$  умножали на количество попарных сравнений и получали новое значение  $p_{\text{cor}}$ . Относительный риск заболевания по конкретному признаку вычисляли как отношение шансов (ОШ):

$$\text{ОШ} = (a \times d) / (b \times c),$$

где  $a$  – частота аллеля (генотипа) в выборке больных,  $b$  – частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке,  $c$  – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больных,  $d$  – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке. Доверительный интервал для относительного риска рассчитывали по стандартным формулам посредством компьютерных программ *Statistica 6.0* и *BIOSTAT*.

## Результаты

Результаты анализа полиморфных локусов генов MMP1, MMP9 и MMP12 в группах больных ХОБЛ и здоровых индивидов представлены в табл. 1.

Распределение частот генотипов и аллелей гена MMP1 достоверно не отличалось между выборками

больных ХОБЛ и здоровых индивидов ( $\chi^2 = 0,312$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,576$  и  $\chi^2 = 2,809$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,246$  соответственно). В обеих группах преобладал гетерозиготный генотип G/GG (44,34 и 49,84 % соответственно). Сравнительный анализ частот генотипов в зависимости от клинической стадии заболевания не выявил статистически достоверных различий между исследуемыми группами.

Частоты аллелей и генотипов полиморфного локуса C(-1562)T гена MMP9 в группах больных ХОБЛ и здоровых индивидов были сходными ( $\chi^2 = 0,163$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,686$  и  $\chi^2 = 1,223$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,542$  соответственно). В группах больных ХОБЛ и здоровых жителей частота гомозиготного генотипа CC достигала 77,99 и 75,55 % соответственно.

С целью выявления полиморфных вариантов, ассоциированных с тяжестью клинического течения и возрастом манифестации заболевания, был проведен сравнительный анализ частот генотипов и аллелей изученных локусов у больных с разными стадиями ХОБЛ и в разных возрастных группах. Выявлены статистически достоверные различия в характере распределения частот генотипов локуса C(-1562)T между больными с различной тяжестью ХОБЛ ( $\chi^2 = 9,849$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,007$ ). Только у больных с 4-й стадией ХОБЛ был выявлен генотип TT (3,97 % против 0 %;  $\chi^2 = 4,78$ ;  $p = 0,029$ ;  $p_{\text{cor}} = 0,058$ ). С другой стороны, частота генотипа CC у пациентов с 4-й стадией ХОБЛ была ниже (72,19 % против 83,23 %;  $\chi^2 = 5,01$ ;  $p = 0,025$ ;  $p_{\text{cor}} = 0,05$ ). Показано, что при 4-й стадии ХОБЛ достоверно чаще встречаются носители редкого аллеля T локуса C(-1562)T гена MMP9 (15,89 % против 8,38 %;  $\chi^2 = 7,804$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,005$ ; ОШ = 2,06; 95%-ный доверительный интервал (ДИ) – 1,22–3,49).

**Таблица 1**  
*Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов матриксных металлопротеаз в группах больных ХОБЛ и здоровых индивидов*

Генотипы. Аллели	Больные ХОБЛ			Здоровые индивиды (n = 319), %
	ХОБЛ в целом (n = 318), %	ХОБЛ 2-й и 3-й стадий (n = 167), %	ХОБЛ 4-й стадии (n = 151), %	
<b>Ген MMP1 (G-1607GG)</b>				
G/G	20,44	22,75	17,88	15,99
G/GG	44,34	43,71	45,03	49,84
GG/GG	35,22	33,53	37,09	34,17
G	42,61	44,61	40,40	40,91
GG	57,39	55,39	59,60	59,09
<b>Ген MMP9 (C-1562T)</b>				
CC	77,99	83,23	72,19	75,55
CT	20,13	16,77	23,84	23,20
TT	1,89	0	3,97*	1,25
C	88,05	91,62	84,11	87,15
T	11,95	8,38	15,89**	12,85
<b>Ген MMP12 (A-82G)</b>				
AA	78,30	79,64	76,82	81,50
AG	21,70	20,36	23,18	18,50
GG	0	0	0	0
A	89,15	89,82	88,41	90,75
G	10,85	10,18	11,59	9,25

Примечание: \* – достоверные различия между группами больных с различной тяжестью ХОБЛ по распределению частот генотипов ( $\chi^2 = 9,849$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,007$ ); \*\* – по распределению частот аллелей ( $\chi^2 = 7,804$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,005$ ); для аллеля T гена MMP9 ОШ = 2,06, 95%-ный ДИ – 1,22–3,49.

**Таблица 2**  
**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса C-1562T гена MMP9 в зависимости от стадии ХОБЛ и возраста манифестации заболевания**

Группы	n	Генотипы, %			Аллели (%)	
		СС	СТ	ТТ	С	Т
<b>Больные с ранней манифестацией ХОБЛ (возраст – от 38 до 55 лет)</b>						
ХОБЛ 2-й и 3-й стадий (30% ≤ ОФВ <sub>1</sub> < 80%)	55	89,09	10,91	0	94,55	5,45
ХОБЛ 4-й стадии (ОФВ <sub>1</sub> < 30%)	35	68,57	28,57	2,86	82,86	17,14
		$\chi^2 = 6,435; df = 2; p = 0,04$			$\chi^2 = 5,26; df = 1; p = 0,022$	
<b>Больные ХОБЛ (возраст – от 55 до 89 лет)</b>						
ХОБЛ 2-й и 3-й стадий (30% ≤ ОФВ <sub>1</sub> < 80%)	112	80,36	19,64	0	90,18	9,82
ХОБЛ 4-й стадии (ОФВ <sub>1</sub> < 30%)	116	73,28	22,41	4,31	84,48	15,52
		$\chi^2 = 5,408; df = 2; p = 0,07$			$\chi^2 = 2,637; df = 1; p = 0,092$	

Примечание: \* – достоверные различия между больными с различной тяжестью ХОБЛ одной возрастной группы.

Анализ данного локуса у больных с ранней манифестацией ХОБЛ (возраст пациентов в данной группе колебался от 39 до 55 лет) показал, что частота аллеля Т гена MMP9 была достоверно выше в группе пациентов с тяжелой IV стадией ХОБЛ, возраст которых не превышает 55 лет по сравнению с больными ХОБЛ той же возрастной группы, но с более легкими стадиями ( $\chi^2 = 5,26; df = 1; p = 0,022$ ), как показано в табл. 2.

В группах больных ХОБЛ и здоровых жителей был изучен полиморфизм A(-82)G гена MMP12. По-

казано, что частоты аллелей и генотипов в группах были сходными ( $\chi^2 = 0,735; df = 1; p = 0,391$  и  $\chi^2 = 0,828; df = 2; p = 0,363$  соответственно). Сравнительный анализ распределения частот генотипов полиморфного локуса A(-82)G гена MMP12 в зависимости от клинической стадии ХОБЛ не выявил различий между группами больных с разными стадиями заболевания.

Результаты анализа полиморфных локусов генов  $\alpha_1$ -антитрипсина и антихимотрипсина представлены в табл. 3. Частота аллеля Lys (Z-мутация) локуса

**Таблица 3**  
**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов  $\alpha_1$ -антитрипсина и антихимотрипсина в группах больных ХОБЛ и здоровых индивидов**

Генотипы, аллели	Больные ХОБЛ			Здоровые индивиды (n = 319), %
	ХОБЛ в целом (n = 318), %	ХОБЛ 2-й и 3-й стадий (n = 167), %	ХОБЛ 4-й стадии (n = 151), %	
<b>Локус Glu342Lys гена PI</b>				
Glu/Glu	99,37	99,4	99,34	97,49
Glu/Lys	0,63	0,6	0,66	2,51
Lys/Lys	0	0	0	0
Glu	99,69	99,7	99,67	98,72
Lys	0,31	0,3	0,33	1,25
<b>Локус Glu264Val гена PI</b>				
Glu/Glu	98,74	98,8	98,68	99,69
Glu/Val	1,26	1,2	1,32	0,31
Val/Val	0	0	0	0
Val	99,37	99,4	99,34	99,84
Val	0,67	0,6	0,66	0,16
<b>Локус G1237A в 3'-нетранслируемой области гена PI</b>				
G/G	87,74	88,62	86,75	93,42
G/A	12,26*	11,38	13,25	6,27
A/A	0	0	0	0,31
G	93,87**	94,31	93,38	96,55
A	6,13	5,69	6,62	3,45
<b>Ala 15 Thr гена ААСТ</b>				
Ala/Ala	29,56	33,53	25,17	29,47
Ala/Thr	50,31	48,50	52,32	47,65
Thr/Thr	20,13	17,90	22,52	22,88
Ala	54,72	57,78	51,32	53,29
Thr	45,28	42,22	48,68	46,71

Примечание: \* – достоверные различия между группой больных ХОБЛ и здоровыми индивидами по распределению частот генотипов локуса G1237A гена PI ( $\chi^2 = 7,743; df = 2; p = 0,021$ ); \*\* – по распределению частот аллелей ( $\chi^2 = 4,461; df = 1; p = 0,035$ ).

Glu342Lys гена PI в группах больных ХОБЛ и здоровых индивидов составила 0,31 и 1,25 % соответственно. Частота встречаемости аллеля Val (S-мутация) также была низкой как в группе ХОБЛ, так и у здоровых индивидов (0,67 и 0,16 % соответственно). Ни в одной из выборок не были обнаружены индивиды, гомозиготные по мутациям, приводящим к тяжелому дефициту  $\alpha_1$ -антитрипсина.

При изучении распределения частот мутаций гена PI в группах с разной тяжестью ХОБЛ достоверные различия выявлены не были. Кроме того, в гене PI нами был изучен полиморфизм G1237A в 3'-нетранслируемой области гена, не связанный напрямую со снижением сывороточного уровня  $\alpha_1$ -антитрипсина, но влияющий на функциональные свойства белка. Доминирующим в обеих группах был генотип GG (87,74 и 93,42 % соответственно). В группе больных наблюдалось статистически достоверное увеличение частоты генотипа GA (12,26 % против 6,27 % в группе контроля;  $\chi^2 = 7,743$ ;  $p = 0,021$ ) и аллеля A (6,13 % против 3,45 % в группе контроля;  $\chi^2 = 4,461$ ;  $p = 0,035$ ). Риск развития ХОБЛ у индивидов с гетерозиготным генотипом GA по локусу G1237A гена PI повышен в 2 раза ( $\chi^2 = 6,11$ ;  $p = 0,041$ ;  $p_{\text{cor}} = 0,082$ ; ОШ = 2,09, 95%-ный ДИ – 1,15–3,81). Сравнительный анализ частот генотипов данного локуса в зависимости от стадии заболевания не выявил достоверных различий между группами. Анализ полиморфизма Ala-15Thg гена ААСТ показал сходство в распределении частот генотипов и аллелей между группой больных ХОБЛ и группой здоровых индивидов. Гетерозиготы Ala/Thg преобладали в обеих группах (50,31 и 47,65 % соответственно). Сравнительный анализ частот генотипов полиморфизма Ala-15Thg гена ААСТ в зависимости от стадии заболевания не выявил достоверных различий между группами.

## Обсуждение

В данной работе нами исследованы полиморфные локусы генов металлопротеаз и антипротеаз у больных ХОБЛ и здоровых индивидов, проживающих в Республике Башкортостан. Анализ полученных результатов показал, что частоты генотипов и аллелей полиморфных локусов генов MMP1, MMP9, MMP12, ААСТ, а также частоты Z и S мутаций гена PI достоверно не различаются в группах больных ХОБЛ и здоровых жителей. С другой стороны, наблюдалось статистически достоверное увеличение частоты гетерозиготного генотипа GA локуса G1237A в 3'-нетранслируемой области гена PI с развитием ХОБЛ (ОШ = 2,09, 95%-ный ДИ – 1,15–3,81). Нами выявлена ассоциация локуса C(-1562)T гена MMP9 с тяжестью ХОБЛ. У больных ХОБЛ с 4-й стадией частота аллеля T была достоверно выше (ОШ = 2,06, 95%-ный ДИ – 1,22–3,49). Только среди пациентов с 4-й стадией ХОБЛ были выявлены индивиды с редким генотипом TT. Кроме того, аллель T гена MMP9 достоверно чаще встречается среди пациентов с тяжелой 4-й стадией ХОБЛ

с ранней манифестацией заболевания (до 55 лет) ( $\chi^2 = 5,26$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,022$ ). Можно предположить, что повышенная экспрессия гена MMP9, обусловленная генетическим полиморфизмом в промоторе данного гена, играет важную роль в раннем развитии тяжелых осложнений ХОБЛ. Ранее анализ данного полиморфизма в гене MMP9 был проведен у больных с эмфиземой легких и у здоровых курильщиков в Японии. Было показано, что частота аллеля T значительно выше в группе больных с эмфиземой легких (24,4 % против 12,3 % у здоровых курильщиков;  $p = 0,02$ ) [9]. В работе *M.Zhou et al.* была выявлена ассоциация аллеля T локуса C(-1562)T гена MMP9 с развитием ХОБЛ у жителей Южного Китая (7 % у больных против 1 % у здоровых жителей;  $p < 0,01$ ) [13]. В то же время *L.Joos et al.* не обнаружили ассоциаций показателей функции внешнего дыхания (ФВД) с полиморфизмом C(-1562)T гена MMP9 у жителей Канады. Частота аллеля T у обследованных с быстрым падением показателей ФВД и у здоровых лиц была практически одинаковой (16 и 14 % соответственно) [11]. Процессы ремоделирования структуры легких являются ведущим звеном многих заболеваний легких: эмфиземы при ХОБЛ, субэпителиального фиброза при астме, внутриальвеолярного фиброза при идиопатическом легочном фиброзе, бронхоэктазов при муковисцидозе. Все эти патологические изменения связаны с повреждением легочного экстрацеллюлярного матрикса. Матриксные металлопротеазы являются ключевыми элементами в этих изменениях [8, 10]. В работе *L.Segura-Valdez et al.* показано, что при ХОБЛ в легких значительно повышена продукция матриксных металлопротеаз, прежде всего желатиназы A и B (MMP2 и MMP9), а также коллагеназы MMP1, присутствуют множественные очаги деструкции эндотелиальных и эпителиальных клеток легочной паренхимы, что приводит к ремоделированию воздухоносных путей и разрушению альвеолярных структур [12]. Принимая во внимание данные, полученные в нашем исследовании, можно предположить, что в развитии такого осложнения ХОБЛ, как эмфизема легких, немаловажную роль играет повышенная экспрессия гена MMP9, обусловленная полиморфизмом в промоторе гена.

Одной из целей медицинской генетики является идентификация генов, которые оказывают влияние на развитие многофакторных заболеваний. Многочисленные исследования доказывают, что матриксные металлопротеазы играют важную роль при ХОБЛ, а генетические варианты, влияющие на экспрессию и активность металлопротеаз, вносят вклад в индивидуальные различия, проявляющиеся в особенностях развития заболевания. Таким образом, матриксные металлопротеазы, в частности MMP9, могут оказаться важными мишенями при терапии ХОБЛ. Если лечение, направленное на специфическое снижение уровня матриксных металлопротеаз окажется эффективным для уменьшения прогрессирования эмфиземы легких, то индивидуальные различия в экспрессии MMP9 могут оказаться важным определяющим фактором успеха такой терапии. Индивиды,

несущие в своем геноме аллели, приводящие к увеличению уровня или активности ММР9 (рисковые аллели) являются целевой группой для проведения антиметаллоротеазного лечения, и именно у таких больных лечение может оказаться достаточно успешным. Таким образом, генетические маркеры могут служить критерием дифференциации больных для адекватного выбора терапевтических мероприятий, в том числе при лечении эмфиземы легких.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (04-04-48318а), а также грантов Президента Российской Федерации (МК-5143.2006.4) и Российского гуманитарного научного фонда (04-06-00016а).

## Литература

1. www.goldcopd.com. GOLD Workshop Report: Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. Updated 2003.
2. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. М.: БИНОМ; 1999.
3. Sandford A.J., Silverman E.K. Chronic obstructive pulmonary disease. 1: Susceptibility factors for COPD the genotype-environment interaction. *Thorax* 2002; 57:736–741.
4. DeMeo D.L., Silverman E.K. Alpha1-antitrypsin deficiency. 2: genetic aspects of alpha (1)-antitrypsin deficiency: phenotypes and genetic modifiers of emphysema risk. *Thorax* 2004; 59: 259–264.
5. Sandford A.J., Spinelli J.J., Weir T.D. et al. Mutation in the 3' region of the  $\alpha_1$ -antitrypsin gene and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Med. Genet.* 1997; 34: 874–875.
6. Sandford A.J., Weir T.D., Spinelli J.J. et al. Z and S mutations of the  $\alpha_1$ -antitrypsin gene and the risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 1999; 20: 287–291.
7. Elkington P.T.G., Friedland J.S. Matrix metalloproteinases in destructive pulmonary pathology. *Thorax* 2006; 61: 259–266.
8. Parks W.C., Shapiro S.D. Matrix metalloproteinases in lung biology. *Respir. Res.* 2001; 2 (1): 10–19.
9. Wallace A.M., Sandford A.J. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases: functional importance in the development of chronic obstructive pulmonary disease? *Am. J. Pharmacogenom.* 2002; 2 (3): 167–175.
10. Atkinson J.J., Senior R.M. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2003; 28 (1): 12–24.
11. Joos L., He J.Q., Shepherdson M.B. et al. The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in the rate of decline in lung function. *Hum. Mol. Genet.* 2002; 11 (5): 569–576.
12. Segura-Valdez L., Pardo A., Gaxiola M. et al. Upregulation of gelatinases A and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD. *Chest* 2000; 117 (3): 684–694.
13. Zhou M., Huang Sh., Wan H.-Y. et al. Genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-9 and the susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Han population of south China. *Chin. Med. J.* 2004; 117 (10): 1481–1484.

Поступила 27.09.06  
© Коллектив авторов, 2008  
УДК 616.24-036.12-092