

В.А.Невзорова¹, С.Е.Вахрушева¹, Т.В.Тилик¹, М.П.Исаева²

Полиморфизм генов глутатионтрансферазы GSTP1 и микросомальной эпоксидгидролазы EPHX1 у курильщиков и при ранних стадиях хронической обструктивной болезни легких

1 – ГБОУ ВПО "Владивостокский государственный медицинский университет" Минздрава России, кафедра терапии ФПК с курсами функциональной и лабораторной диагностики: 690002, Владивосток, пр-т Острякова, 2;

2 – ФГБУН "Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова" ДВО РАН: 690022, Владивосток, пр-т 100-лет Владивостоку, 159

V.A.Nevzorova, S.E.Vakhrusheva, T.V.Tilik, M.P.Isaeva

Polymorphism of GSTP1 and EPHX1 genes in smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease stages I and II

Summary

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is known as a disease associated with smoking. Investigation of genetic control of the connective tissue seems to be important. Polymorphism of glutathiontransferase GSTP1 and microsomal epoxidhydrolase EPHX1 genes has been studied in 40 healthy smokers and 40 patients with I and II stages COPD. Analysis of polymorphic loci of GSTP1 and EPHX1 was performed by polymerase chain reaction. A high frequency of GSTP1 and EPHX1 heterozygous polymorphisms was established in patients with COPD. Relative risk of COPD increased in the presence of these polymorphic variants.

Molecular genetic markers, such as GSTP1 and EPHX1 can be used to predict the increased risk of COPD.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, gene polymorphism, detoxication of xenobiotics.

Резюме

Изучена частота встречаемости ряда мутаций генов глутатионтрансферазы GSTP1 и микросомальной эпоксидгидролазы EPHX1, участвующих в процессах детоксикации ксенобиотиков, у лиц с ранними стадиями хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и факторами риска ее развития. Анализ полиморфных локусов генов GSTP1 и EPHX1 проводили методом полимеразной цепной реакции. Достоверность различий в распределении частот аллелей и генотипов между группами больных и здоровых лиц оценивалась по тесту χ^2 с помощью программы *Biostat*. В группе больных ХОБЛ установлено достоверное увеличение частоты встречаемости гетерозиготной мутации 105I/V локуса Ile105Val гена GSTP1 по сравнению с группой курильщиков; гетерозиготной мутации 114A/V локуса Ala114Val гена GSTP1 относительно контрольной группы и, в большей степени, по сравнению с группой курильщиков без признаков ХОБЛ; гетерозиготной мутации 113T/H локуса Tug113His гена EPHX1 у пациентов с ХОБЛ II стадии по сравнению с контрольной группой.

Проведенное исследование показало, что наибольшее значение в развитии ХОБЛ имеют гетерозиготные мутации изученных генов. Указанные мутации генов GSTP1 и EPHX1 могут быть рекомендованы в качестве маркера предиктивной диагностики развития ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, генетический полиморфизм, детоксикация ксенобиотиков.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к никотин-ассоциированным заболеваниям, распространенность которых, согласно прогнозу Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), продолжает неуклонно увеличиваться [1].

Несмотря на тесную связь между интенсивностью курения табака и падением легочной функции, только у 10–25 % курильщиков развивается ХОБЛ [2]. Можно предположить, что ведущее значение в индивидуальной реакции организма на продукты сгорания табака имеют генетически опосредованные реакции [3].

Устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды зависит от состояния сис-

темы детоксикации ксенобиотиков. В организме этот процесс осуществляется с помощью специальных ферментных систем и мембран-ассоциированных рецепторов, регулирующих их активность. Особый интерес в связи с этим приобретает изучение генетического контроля над процессами обезвреживания.

Глутатион-опосредованная детоксикация играет ключевую роль в обеспечении резистентности клеток к перекисному окислению липидов, воздействию свободных радикалов и повреждению ДНК. Группа ферментов 2-й фазы детоксикации из семейства глутатионтрансфераз катализирует взаимодействие глутамата с электрофильными атомами N, C,

S, O и отвечает за конъюгацию сульфгидрильной группы с молекулами ксенобиотиков. Глютатионтрансферазы широко представлены во всех органах и тканях, однако наиболее высока их концентрация в печени, плаценте, легких, мозге, почках, кишечнике.

Одним из ферментов, метаболизирующих промежуточные реактивные соединения в водорастворимые дериваты с последующим выведением из организма, является микросомальная эпоксидгидролаза (EPHX1). Из 11 полиморфных локусов, обнаруженных в микросомальной эпоксидгидролазе человека, 2 расположены в кодирующей части гена: в экзоне 3 идентифицирована замена Tyr113 на His, а в экзоне 4 – замена His139 на Arg. В исследованиях *in vitro* активность фермента EPHX1 у лиц с аллелем His113 снижается на 50 % (медленный аллель), а у лиц с аллелем Arg139 повышается на 25 % (быстрый аллель) [4].

Снижение активности микросомальной эпоксидгидролазы приводит к накоплению промежуточных продуктов окисления ксенобиотиков, в частности табачного дыма, и повреждению структур клетки.

Выявление неблагоприятных полиморфизмов генов глютатионтрансферазы GSTP1 и микросомальной эпоксидгидролазы EPHX1 может иметь предиктивное значение в диагностике ХОБЛ и выявлении групп риска заболевания.

Материалы и методы

На базе ГБУЗ "Владивостокская клиническая больница № 1", Аллерго-респираторного центра и Центра здоровья г. Владивостока были обследованы 80 человек. Диагноз ХОБЛ устанавливался в соответствии с критериями "Глобальной стратегии диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких" 2010 г. [1].

Все пациенты были рандомизированы в следующие группы: 1-ю группу ($n = 40$) составили курящие без признаков ХОБЛ; 2-ю группу ($n = 40$) – курящие пациенты с ХОБЛ I и II стадии, сопоставимые с пациентами из 1-й группы по стажу и интенсивности курения. Во 2 группе были выделены следующий подгруппы: 2А – пациенты с ХОБЛ I стадии; 2Б – пациенты с ХОБЛ II стадии. Группу контроля составили условно здоровые некурящие лица, соответствующие основным группам по возрасту, полу, этнической принадлежности, без заболеваний легочной системы в анамнезе.

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием набора *Genomics DNA Purification Kit* (Fermentas, Евросоюз). Определение полиморфных вариантов генов GSTP1 и EPHX1 проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим прямым секвенированием ПЦР-фрагментов. Для ПЦР-амплификации 3–5-го экзона GSTP1 использовали праймеры GstP-E32-I105-For (5'-CCGGTCCCCACATCTCGTACTT-3') и GstP-E32-I105-Rev (5'-TAAGGGGGTGAGGGCAACAAGAAG-3'), для ПЦР 6–7-го экзона GSTP1 – прай-

меры GstP-A114-R187-For (5'-ATCTGGGACTCTGTGTCTGG-3') и GstP-A114-R187-Rev (5'-CCAAC-CCTCACTGTTTCCCGT-3'). ПЦР-амплификацию 3-го экзона EPHX1 и генотипирование замены Y113H проводили с помощью праймеров EPHX1-Y113H- For (5'-GTGCTCTGTCSTTCCCATCCC-3') и EPHX1-Y113H-Rev (5'-TGCATGTATGTGTTCCCTGCCT-3'). Дизайн праймеров был выполнен с помощью программ *Vector NTI 10* и *PrimerPremier 3*.

ПЦР-амплификация выполнялась в объеме 50 мкл, содержащем 25–50 нг геномной ДНК, по 10 нМ каждого дНТФ, 1 ед. GoTaq полимеразы (*Promega*, США), 1 × GoTaq буфер, по 25 пкМ прямого и обратного праймеров. Температурный режим ПЦР включал в себя: 1) предварительную денатурацию ДНК при 95 °С в течение 5 мин; 2) 30 циклов из денатурации ДНК при 94 °С – 20 с, отжига праймеров при 55 °С – 20 с; достройки ДНК при 72 °С – 1 мин; 3) синтез ДНК при 72 °С – 7 мин. Результаты реакции анализировали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле. ПЦР-фрагменты очищали с помощью коммерческого набора *DNA Extraction Kit* (Fermentas, Литва) и секвенировали с помощью вышеуказанных праймеров на автоматическом ДНК-анализаторе 3130xL (*Applied Biosystems*, США). Последовательности экзона GSTP1 и EPHX1 были проанализированы с использованием программы *Mega v. 4* (Tamura et al., 2007).

Достоверность различий в распределении частот аллелей и генотипов между группами больных и здоровых лиц оценивалась по тесту χ^2 с помощью программы *BioStat*. Ассоциацию с развитием ХОБЛ выявляли, сравнивая выборки больных и здоровых индивидов по частоте одного признака с использованием критерия χ^2 . Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Относительный риск заболевания по конкретному признаку вычисляли как отношение шансов с определением 95%-ного доверительного интервала (ДИ) для оценки достоверности полученных результатов.

Результаты

Средний возраст исследуемых в 1-й группе составил 47,72 ± 3,2 года, во 2-й – 50,25 ± 6,5 лет. Достоверных различий между группами не выявлено ($p > 0,05$), что говорит о сопоставимости изучаемых групп по возрасту.

Анализ интенсивности курения показал, что в 1-й группе пациентов индекс курения (ИК) составил 218,0 ± 120,5, т. е. Согласно среднему значению ИК, группа относилась к безусловным курильщикам (ИК > 160). Среднее значение числа пачек / лет в 1-й группе было 40,1 ± 22,35.

Во 2-й группе пациентов ИК составил в среднем 248,5 ± 120,8, т. е. они также относились к безусловным курильщикам. Среднее число пачек / лет – 52,14 ± 23,75. Достоверных различий между значениями ИК и числом пачек / лет между группами не выявлено ($p > 0,05$), что указывает на сопоставимость групп по интенсивности курения и соответствует

основной цели исследования. Внутри 2-й группы различий по показателям ИК также выявлено не было. Так, при ХОБЛ I стадии показатель ИК составил $239,4 \pm 125,0$, а при II стадии – $268,2 \pm 86,14$, без достоверных различий ($p > 0,05$). Среднее число пачек / лет в подгруппе 2А было $49,0 \pm 30,2$, в подгруппе 2Б – $58,12 \pm 19,0$, без достоверных различий между подгруппами ($p > 0,05$).

Из приведенного выше анализа можно сделать вывод, что исследуемые группы были сопоставимы по возрасту, ИК и числу пачек / лет.

Для изучения вклада полиморфизмов гена GSTP1, участвующего в детоксикации ксенобиотиков, в развитии ХОБЛ, была исследована частота встречаемости 6 известных миссенс-мутаций, а именно E32V (экзон 3), D58N (экзон 4), I105V (экзон 5), A114V (экзон 6), R187W (экзон 7). Полиморфизмы идентифицировали путем прямого секвенирования 2 фрагментов, где 1-й соответствовал 3–5-му экзонам и включал в себя E32V, D58N и I105V-мутации, а 2-й – 6–7-му экзонам и включал в себя A114V, D147Y и R187W-мутации.

При исследовании гомозиготного генотипа 105V/V полиморфного локуса Ile105Val гена GSTP1 (рис.1) было выявлено, что в контрольной группе данная мутация встречается в 3,2 % случаев, в группе курильщиков без признаков ХОБЛ – в 14,8 % случаев. В группе больных ХОБЛ гомозиготная мутация обнаружена в 6,2 %, причем все случаи выявлены у больных с I стадией заболевания. Достоверных различий между опытными и контрольной группами не получено (для 1-й группы и контроля $\chi^2 = 5,0, p = 0,28$; для 2-й группы и контроля – $\chi^2 = 1,8, p = 0,81$).

Исследование гетерозиготного генотипа 105I/V гена GSTP1 (рис.1) выявило, что в контрольной группе данная мутация регистрируется в 65,5 % случаев. Наименьший показатель обнаружен в группе

курильщиков без признаков ХОБЛ (55,5 %) с достоверными различиями по сравнению с показателями контрольной группы ($\chi^2 = 17,4, p < 0,01$). Наибольшая частота встречаемости гетерозиготного генотипа зарегистрирована в группе больных ХОБЛ (75 %), что достоверно выше значений контрольной группы (65,5 %; $\chi^2 = 17,8, p < 0,01$). Достоверной разницы между показателями 1-й и 2-й группы получено не было ($\chi^2 = 9,0, p = 0,07$).

При анализе частоты встречаемости генотипа 105I/V среди подгрупп больных с ХОБЛ было выявлено, что у пациентов с I стадией ХОБЛ гетерозиготная мутация обнаруживается достоверно чаще по сравнению с контрольной (75 % vs 55,5 %; $\chi^2 = 18,3, p < 0,01$) и 1-й (75 % vs 65,5 %; $\chi^2 = 11,2, p < 0,01$) группой. У больных со II стадией ХОБЛ гетерозиготный генотип также встречается достоверно чаще, чем в контроле (75 % vs 55,5 %; $\chi^2 = 15,4, p < 0,01$) и в 1-й группе (75 % vs 65,5 %; $\chi^2 = 11,2, p < 0,05$). Достоверных различий между частотой встречаемости мутаций в подгруппах IIА и IIВ не получено.

Помимо изученных полиморфизмов гена GSTP1 была проанализирована доля "нормального" генотипа 105I/I локуса Ile105Val (рис. 1). В контрольной группе доля генотипа 105I/I составляет 31,3 %, что достоверно выше показателей в группе курильщиков без признаков ХОБЛ (29,7 %; $\chi^2 = 9,9, p < 0,05$), а также значений в группе больных ХОБЛ (18,8 %; $\chi^2 = 10,1, p < 0,05$). Различия в содержании "нормального" генотипа GSTP1, установленные в группе активных курильщиков и пациентов с ХОБЛ, достоверны с наименьшими значениями в последнем случае (29,7 % и 18,8 % соответственно; $\chi^2 = 11,0, p < 0,05$).

При исследовании гомозиготного генотипа 114V/V полиморфного локуса Ala114Val гена GSTP1 (рис. 2) выявлено, что данный генотип встречается только в 1-й группе обследованных курильщиков без

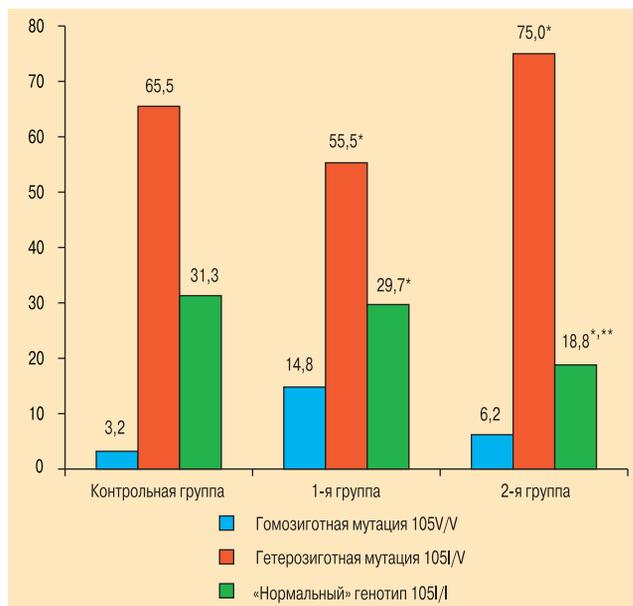


Рис. 1. Распределение полиморфных вариантов локуса Ile105Val гена GSTP1 в исследуемых группах
Примечание: * – достоверность различий по сравнению с группой контроля; ** – достоверность различий по сравнению с 1-й группой.

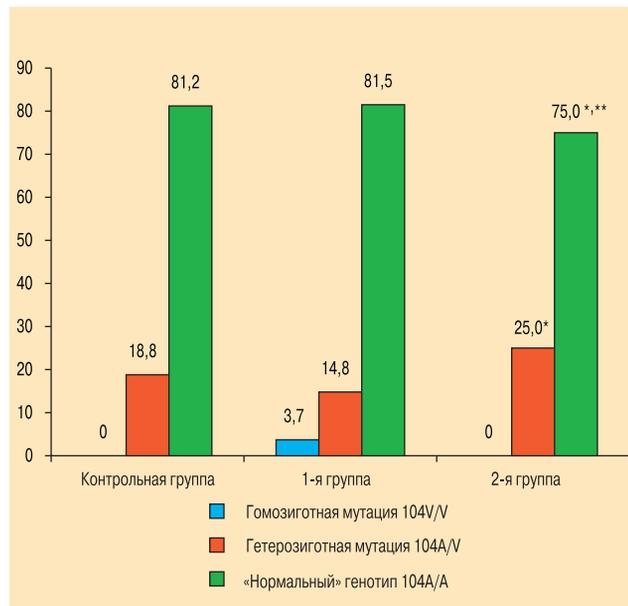


Рис. 2. Распределение полиморфных вариантов локуса Ala114Val гена GSTP1 в исследуемых группах
Примечание: * – достоверность различий по сравнению с группой контроля; ** – достоверность различий по сравнению с 1-й группой.

признаков ХОБЛ в 3,7 % случаев. Ни в контрольной группе, ни среди пациентов с ХОБЛ ее наличие не установлено.

Гетерозиготная мутация 114A/V гена GSTP1 (рис. 2) встречается в контрольной группе у 18,8 % обследованных. У активных курильщиков без проявлений ХОБЛ ее наличие обнаружено в 14,8 %, без достоверных различий с контрольной группой ($\chi^2 = 7,9, p > 0,05$). Наибольшая частота встречаемости указанной мутации зарегистрирована в группе больных ХОБЛ с достоверной разницей относительно показателей контрольной группы (25,0 % и 18,8 % соответственно; $\chi^2 = 10,0, p < 0,05$). Следует отметить, что все случаи гетерозиготной мутации 114A/V выявлены у пациентов с I стадией ХОБЛ. Особый интерес представляет полученный результат, что данная мутация GSTP1 отсутствует у пациентов со II стадией ХОБЛ.

Доля "нормального" генотипа 114A/A локуса Ala114Val (рис. 2) составляет 81,2 % в контрольной группе и 81,5 % в 1-й группе, что достоверно выше показателя 2-й группы – 75 % ($\chi^2 = 14,8, p < 0,01$ для 2-й группы и контроля; $\chi^2 = 16,4, p < 0,01$ для 2-й и 1-й группы).

При исследовании полиморфизмов E32V, D58N, R187W гена GSTP1 мутации не были зарегистрированы ни в одной из групп, включая контрольную. Данный факт может быть связан с редкой встречаемостью данных мутаций, а также обусловлен малой выборкой обследованных.

Помимо исследования полиморфизмов гена GSTP1 были изучены полиморфные варианты локуса Ttg113His гена ERHX1.

Установлено, что в группе контроля гомозиготный генотип 113H/H гена ERHX1 (рис. 3) встречается в 14,7 % случаев, в то время как в группе курящих лиц без признаков ХОБЛ – в 7,4 %, а в группе пациентов с ХОБЛ – в 18,8 %. Достоверных различий

между сравниваемыми группами получено не было (для 1-й группы и контроля – $\chi^2 = 4,5, p = 0,27$; для 2-й группы и контроля – $\chi^2 = 5,8, p = 0,2$).

Был проведен анализ частоты встречаемости гомозиготной мутации 113H/H гена ERHX1 среди подгрупп пациентов с ХОБЛ. В подгруппе больных с ХОБЛ I стадии данный вариант встречается в 12,5 % случаев, в подгруппе больных со II стадией – в 25 %. Достоверных различий между сравниваемыми подгруппами, а также между указанными подгруппами, контролем и 1-й группой не выявлено ($p > 0,05$).

При исследовании гетерозиготной мутации 113T/H локуса Ttg113His гена ERHX1 (рис. 3) выявлено, что в контрольной группе она регистрируется у 38,3 % обследованных. Обнаружено достоверное увеличение частоты встречаемости гетерозиготного генотипа в группе курильщиков без признаков ХОБЛ по сравнению с контролем (44,4 % vs 38,3 %; $\chi^2 = 10,9; p < 0,05$), а также в группе пациентов с ХОБЛ по сравнению с контролем (43,7 % vs 38,3 %; $\chi^2 = 13,4, p < 0,01$).

При проведении анализа встречаемости гетерозиготной мутации 113T/H в подгруппах пациентов с ХОБЛ выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости данного варианта в подгруппе больных с ХОБЛ II стадии по сравнению с курильщиками без признаков ХОБЛ (50 % vs 44,4 %; $\chi^2 = 10,7, p < 0,05$), а также по сравнению с контролем (50 % vs 38,3 %; $\chi^2 = 11,4, p < 0,01$). Достоверной разницы между показателями подгруппы больных с ХОБЛ I стадии (37,5 %) и указанных групп зарегистрировано не было ($p > 0,05$).

В контрольной группе доля "нормального" генотипа 113T/T гена ERHX1 (рис. 3) составила 47 % случаев, в 1-й группе – 48,2 %, во 2-й группе – 37,5 %. Разница между значениями 1-й и 2-й группы относительно показателей контрольной группы статистически достоверна ($\chi^2 = 18,9, p < 0,01$ и $\chi^2 = 19,4, p < 0,01$ соответственно). Различия между частотой встречаемости нормального генотипа в группах курильщиков без признаков ХОБЛ и больных ХОБЛ также статистически достоверны ($\chi^2 = 14,3, p < 0,01$). У пациентов со II стадией ХОБЛ частота встречаемости данного генотипа была наименьшей – 25 %, что достоверно ниже значений в группе активных курильщиков без ХОБЛ ($\chi^2 = 10,6, p < 0,05$) и показателей контрольной группы ($\chi^2 = 18,0, p < 0,01$). Различия между показателем "нормального" генотипа пациентов с ХОБЛ I стадии и курильщиков без признаков ХОБЛ и контрольной группы также достоверны (50 % vs 48,2 %; $\chi^2 = 18,9, p < 0,01$ и 50 % vs 47 %; $\chi^2 = 19,4, p < 0,01$ соответственно).

Помимо изучения частоты полиморфизмов генов GSTP1 и ERHX1 представилось интересным исследовать относительных риск возникновения ХОБЛ в зависимости от наличия достоверно значимых мутаций указанных генов.

Относительный риск (ОР) развития ХОБЛ при наличии гетерозиготной мутации 105I/V локуса Ile105Val гена GSTP1 относительно курильщиков без признаков ХОБЛ повышен в 2,4 раза (95%-ный ДИ –

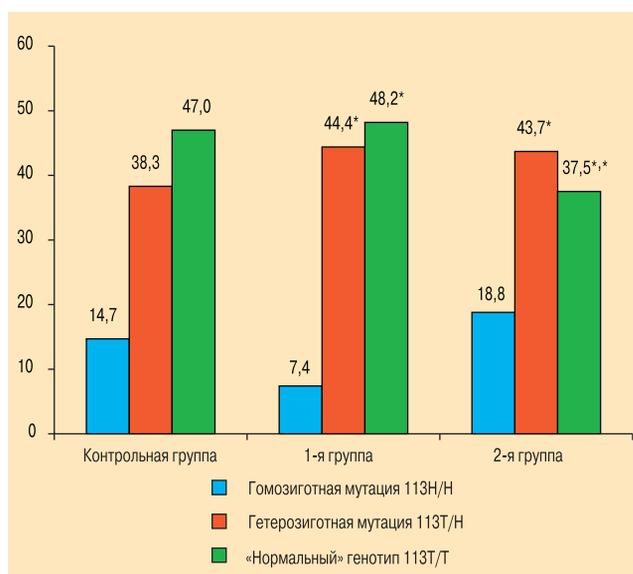


Рис. 3. Распределение полиморфных вариантов локуса Ttg113His гена ERHX1 в исследуемых группах

Примечание: * – достоверность различий по сравнению с группой контроля; ** – достоверность различий по сравнению с 1-й группой.

0,93–6,19, $p < 0,05$). Данный результат указывает на существенный вклад гетерозиготной мутации 105I/V в развитие ХОБЛ у курильщиков.

Отношение шансов (ОШ) для 2-й группы и контроля при наличии гетерозиготной мутации 114A/V локуса Ala114Val гена GSTP1 составило 1,44 (95%-ный ДИ – 0,59–3,52, $p < 0,05$), для 2-й и 1-й группы – 1,91 (95%-ный ДИ – 0,83–4,4, $p < 0,05$), что говорит об увеличении ОР возникновения ХОБЛ. Полученные результаты позволяют предполагать, что наличие гетерозиготной мутации 114A/V способствует развитию заболевания как у некурящих лиц, так и, в большей степени, у активных курильщиков.

При наличии гетерозиготной мутации 113T/H локуса Tug113His гена ERHX1 для 2-й группы и контроля ОР заболевания был несколько выше – в 1,25 раза (95%-ный ДИ – 0,55–2,82, $p < 0,05$). Более высокий ОР регистрировался при определении ОШ для подгруппы больных с ХОБЛ II стадии и контрольной группы (ОР – 1,6, 95%-ный ДИ – 0,63–4,4, $p < 0,05$). Данный результат свидетельствует о вкладе гетерозиготной мутации 113T/H в развитие заболевания у некурящих лиц.

Для оценки вклада "нормального" генотипа GSTP1 и ERHX1 в снижение риска развития ХОБЛ проведено вычисление ОШ для каждого из генотипов.

Для контрольной группы и группы больных ХОБЛ при наличии "нормального" генотипа 105I/I гена GSTP1 ОШ составило 0,62 (95%-ный ДИ – 0,17–1,49, $p < 0,05$), для группы активных курильщиков без признаков ХОБЛ и группы пациентов с ХОБЛ ОШ = 0,54 (95%-ный ДИ – 0,19–1,56, $p < 0,05$). Данные результаты говорят о снижении риска возникновения ХОБЛ в 2 раза как у некурящих лиц, так и у активных курильщиков при условии наличия генотипа 105I/I гена GSTP1.

Анализ ОШ для группы контроля и пациентов с ХОБЛ при наличии "нормального" генотипа 114A/A гена GSTP1 показал следующие значения для группы курильщиков без ХОБЛ и пациентов с ХОБЛ: ОШ – 0,45, 95%-ный ДИ – 0,28–1,68, $p < 0,05$ и ОШ – 0,44, 95%-ный ДИ – 0,19–1,12, $p < 0,05$. Полученные результаты указывают на снижение риска заболевания в 2 раза у некурящих лиц и у "злостных" курильщиков при условии присутствия генотипа 114A/A гена GSTP1.

При наличии "нормального" генотипа 113T/T гена ERHX1 ОШ для контрольной группы и группы пациентов с ХОБЛ составило 0,67 (95%-ный ДИ – 0,29–1,57, $p < 0,05$), для группы курильщиков без проявлений ХОБЛ и больных ХОБЛ ОШ = 0,64 (95%-ный ДИ – 0,28–1,45, $p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о снижении риска заболевания как у некурящих, так и у активно курящих лиц. При этом для контрольной группы и подгруппы больных с ХОБЛ II стадии ОШ составило 0,37 (95%-ный ДИ – 0,08–1,64, $p < 0,05$), а для курильщиков без признаков ХОБЛ и больных ХОБЛ II стадии ОШ = 0,35 (95%-ный ДИ – 0,08–1,53, $p < 0,05$), что указывает на снижение риска прогрессирования забо-

левания как для некурящих лиц, так и для курильщиков.

Обсуждение

Наиболее ранние исследования на сравнительно небольшой выборке жителей Японии показали, что гетерозиготный полиморфизм 105I/V гена GSTP1 ассоциирован с ХОБЛ, а полиморфизм 114A/V не имеет связи с заболеванием [5]. Далее несколько исследований в американской и европейской популяциях, а также среди жителей Тайваня и Китая выявили связь полиморфизма 105I/V со снижением легочной функции [6], более частую встречаемость данного полиморфизма у пациентов с дефицитом α_1 -антитрипсина [7] и, напротив, отсутствие ассоциации с ХОБЛ [8] при наличии изолированного полиморфизма 105I/V гена GSTP1 [9]. Частота встречаемости полиморфизма 105I/V в европейской популяции составляет 35,3 %, полиморфизма 114A/V – 14,3 % [10]. В единичных исследованиях российских авторов показана ассоциация полиморфизма 105I/V с наличием ХОБЛ [11].

Данные, полученные в нашем исследовании, свидетельствуют об увеличении риска заболевания при наличии гетерозиготной мутации 105I/V гена GSTP1 в 2,4 раза. Доля "нормального" генотипа 105I/I максимальна в контрольной группе и достигает минимальных значений в группе пациентов с ХОБЛ, при этом наличие такого генотипа обуславливает снижение риска возникновения ХОБЛ в 2 раза как у некурящих лиц, так и у курильщиков.

Наличие гомозиготной мутации 114V/V гена GSTP1, согласно результатам нашего исследования, зарегистрировано только в группе курильщиков без признаков ХОБЛ, однако небольшая частота встречаемости (3,7 %) требует дальнейшего исследования данной мутации.

Наличие гетерозиготной мутации 114A/V гена GSTP1, согласно результатам нашего исследования, способствует развитию заболевания в большей степени у курильщиков (ОШ – 1,91) и у некурящих лиц (ОШ – 1,44). Наличие "нормального" генотипа 114A/A ассоциировано со снижением риска развития ХОБЛ у некурящих и курящих лиц в 2 раза.

В течение последних лет в литературе встречаются данные исследований полиморфизмов митохондриальной эпексидгидролазы при ХОБЛ – важного звена в цепочке антирадикальной защиты организма. Доказано, что медленный фенотип встречается чаще при эмфиземе (22 %) и ХОБЛ (19 %), чем у здоровых лиц (6 %) [12]. В крупном американском исследовании изучено 8 полиморфизмов фермента, однако значимые результаты получены для 2 из них – 113His (медленный аллель) и 139Arg (быстрый аллель), которые показали связь с замедлением выведения из организма карбоксида (СО), снижением работоспособности и в целом ассоциацию с ХОБЛ тяжелой степени (113His) [13].

Более раннее исследование на меньшей выборке жителей Китая показало отсутствие связи изолиро-

ванного полиморфизма 113Т/Н гена mEPHX с ХОБЛ. При наличии этого полиморфизма и нулевого генотипа GSTM1 или 105I/I гена GSTP1 связь с ХОБЛ прослеживалась [8]. Однако исследование большого количества представителей европейской популяции, напротив, показало защитный эффект полиморфизма 113Т/Н гена mEPHX при ХОБЛ [14].

В крупный мета-анализ, проведенный в 2008 г. *G.Hu et al.* [4], были взяты 16 исследований, включавших 1 847 пациентов с ХОБЛ и 2 455 лиц контрольных групп. При исследовании гетерозигот 113Т/Н не было выявлено достоверной разницы между пациентами с ХОБЛ с контрольной группой. При анализе частоты встречаемости мутантных гомозигот 113Н/Н было обнаружено достоверное увеличение риска заболеваемости ХОБЛ как в общей популяции (в 1,5 раза), так и среди лиц азиатской расы в отдельности (в 1,5 раза).

Также в данном мета-анализе было проанализировано наличие фенотипов в популяции. Присутствие "быстрого" фенотипа ассоциировалось со снижением риска заболеваемости ХОБЛ у представителей азиатской расы, в то время как наличие "медленного" и "очень медленного" фенотипов ассоциировалось с повышением риска ХОБЛ.

Данные работы *G.Hu et al.* разнятся с результатами мета-анализа, проведенного ранее *J.Brogger et al.* (2006) [14], где наличие мутантного аллеля His113 ассоциировалось со снижением риска заболеваемости ХОБЛ.

Согласно результатам нашего исследования, наличие гетерозиготной мутации 113Т/Н гена EPHX1 обуславливает увеличение риска возникновения ХОБЛ у некурящих лиц в 1,6 раза.

Доля "нормального" генотипа 113Т/Т достоверно снижается в группе больных ХОБЛ по сравнению как с контрольной, так и с группой курильщиков, достигая наименьшего значения в подгруппе пациентов с ХОБЛ II стадии. В то же время наличие "нормального" генотипа 113Т/Т снижает риск возникновения ХОБЛ в 2 раза, а риск утяжеления заболевания более чем в 2 раза.

Заключение

Проведенное исследование показало, что наибольшую значимость в развитие ХОБЛ вносят гетерозиготные мутации изученных генов, по сравнению с гомозиготными мутациями. Результаты исследования указывают на возможность существенного вклада полиморфизмов 105I/V и 114A/V глутатионтрансферазы GSTP1 и полиморфизма 113Т/Н микросомальной эпоксидгидролазы EPHX1 в развитие ХОБЛ.

Литература

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI / WHO workshop report. Last update 2010. www.goldcopd.org

2. *Mannino D.M., Homa D.M., Akinbami L.J. et al.* Chronic obstructive pulmonary disease surveillance—United States, 1971–2000. *Morbid. Mortal. Wkly Rep. Surveill. Summ.* 2002; 51: 1–16.
3. *Тилик Т.В., Невзорова В.А., Вахрушева С.Е. и др.* Полиморфизм генов глутатионтрансферазы при хронической обструктивной болезни легких, ассоциированной с ишемической болезнью сердца. *Pacific Med. J.* 2010; 1: 13–15.
4. *Hu G., Shi Z., Hu J. et al.* Association between polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase and COPD: Results from meta-analyses. *Respirology* 2008; 13: 837–850.
5. *Ishii T., Matsuse T., Teramoto S. et al.* Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54 (8): 693–696.
6. *He J.-Q., Connet J.E., Anthonisen N.R. et al.* Glutathione S-transferase variants and their interaction with smoking on lung function. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170: 388–394.
7. *Rodriguez F., Roza C., Jordi R. et al.* Glutathione S-transferase P1 and lung function in patients with α_1 -antitrypsin deficiency and COPD. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2005; 33: 71–78.
8. *Cheng S-L., Yu C-J., Chen C-J. et al.* Genetic polymorphism of epoxide hydrolase and glutathione S-transferase in COPD. *Eur. Respir. J.* 2004; 23: 818–824.
9. *Chan-Yeung M., Ho S.P., Cheung A.H. et al.* Polymorphisms of glutathione S-transferase genes and functional activity in smokers with or without COPD. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2007; 11 (5): 508–514.
10. *Ada A.O., Suzen H.S., Iscan M.P.* Polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase P1 in a male turkish population. *Int. J. Toxicol.* 2007; 26: 41–46.
11. *Корытина Г.Ф.* Анализ полиморфных вариантов генов ферментов антиоксидантной защиты и их связь с развитием хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Башкортостан. *Генетика* 2009; 45 (7): 967–976.
12. *Joos L., Pare P.D., Sandford A.J.* Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Swiss. Med. Wkly* 2002; 132: 27–37.
13. *Hersh C.P., DeMeo D.L., Lazarus R. et al.* Genetic association analysis of functional impairment in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 173: 977–984.
14. *Brogger J., Steen V.M., Eiken H.G. et al.* Genetic association between COPD and polymorphisms in TNF, ADRB2 and EPHX1. *Eur. Respir. J.* 2006; 27: 682–688.

Информация об авторах

Невзорова Вера Афанасьевна – д. м. н., проф., зав. кафедрой терапии ФПК с курсами функциональной и лабораторной диагностики ГБОУ ВПО "Владивостокский государственный медицинский университет" Минздравсоцразвития России; тел.: 8-423-245-17-02; e-mail: nevzorova@inbox.ru

Вахрушева Светлана Евгеньевна – аспирант кафедры терапии ФПК с курсами функциональной и лабораторной диагностики ГБОУ ВПО "Владивостокский государственный медицинский университет" Минздравсоцразвития России; тел.: 8-950-286-56-84; e-mail: yersinia@inbox.ru

Тилик Татьяна Валерьевна – аспирант кафедры терапии ФПК с курсами функциональной и лабораторной диагностики ГБОУ ВПО "Владивостокский государственный медицинский университет" Минздравсоцразвития России; тел.: 8-423-234-98-97; e-mail: moy-yaschik.conc@rambler.ru

Исаева Марина Петровна – к. м. н., доцент, старший научный сотрудник ФГБУН Тихоокеанский институт биорганической химии им. Г.Б.Елякова ДВО РАН; тел.: 8-914-702-09-15; e-mail: issaeva@gmail.com

Поступила 24.02.12

© Коллектив авторов, 2012

УДК 616.24-036.12-056.7:613.84