

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2004

УДК 616.24-036.12-056.7-092

Д.Г.Янбаева², О.В.Байнак¹, Г.Ф.Корытина², Ш.З.Загидуллин¹, Т.В.Викторова²

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ КАК МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

¹ Башкирский государственный медицинский университет;

² Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук

POLYMORPHIC VARIANTS OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINE GENES AS MARKERS OF PREDISPOSITION FOR CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE

D.G. Yanbaeva, O.V. Bainak, G.F. Korytina, Sh.Z. Zagidullin, T.V. Viktorova

Summary

The distribution of pro-inflammatory cytokine gene variants (tumour necrosis factor α -TNF, lymphotoxin — LTA, interleukin-1 β — IL-1 β) was studied in 139 patients with chronic obstructive lung disease (COPD) and in healthy individuals ($n = 210$). Analysis of $-308G/A$ locus of TNF gene did not reveal significant difference between patients and controls ($p > 0.05$). It was observed that LTA genotypes were associated with COPD severity. Marked prevalence of AG heterozygous genotype was noted in patients with II and III COPD stages (59.7 % and 55.0 % accordingly), but IV stage COPD patients had increased frequency of GG homozygous mutant genotype up to 11.5 %. The GG genotype of the LTA gene in smokers strongly associated with more severe COPD (OR = 5.21, 95%CI: 1.48–18.52). Among patients with $-511C/T$ locus of IL-1 β gene, 90.4 % had III and IV COPD stages. Thus, the T/T mutant homozygous patients had a 4.4-fold increased risk for very severe COPD development. TNF/LTA genotype combinations were determined for various COPD stages.

Резюме

Изучено распределение вариантов генов, кодирующих провоспалительные цитокины: фактор некроза опухоли- α — TNF- α , лимфотоксин- α — LTA, интерлейкин-1 β — IL-1 β , у 139 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) различной степени тяжести и у здоровых индивидов ($n = 210$). При анализе полиморфизма $-308G/A$ гена TNF различий между исследуемыми группами не обнаружено. По локусу $+252A/G$ гена LTA выявлены генотипы, ассоциированные с тяжестью течения ХОБЛ: у больных со II и III стадиями ХОБЛ отмечено преобладание гетерозиготного генотипа AG (59,7 % и 55,0 % соответственно), тогда как у больных с IV стадией ХОБЛ увеличена частота генотипа GG до 11,5 %. Генотип GG в гене LTA в сочетании с таким фактором риска как курение значительно отягощает прогноз тяжести течения заболевания (OR = 5,21, 95%CI 1,48–18,52). Среди всех больных с генотипом TT гена IL-1 β (полиморфизм $-511C/T$) 90,4 % приходилось на пациентов III и IV стадий ХОБЛ. Соответственно, при наличии генотипа TT риск развития крайне тяжелой формы ХОБЛ (стадия IV) оказался повышен в 4,4 раза (OR = 4,4, 95%CI 0,92–29,13). По генам TNF и LTA определены комбинации генотипов, маркирующие тяжесть клинического течения ХОБЛ.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к числу наиболее распространенных заболеваний человека. По оценкам ВОЗ, ХОБЛ является одной из важнейших причин заболеваемости и смертности во всем мире, приводящей к значительно-му экономическому и социальному ущербу. В структуре заболеваемости ХОБЛ входит в число лидирую-

щих причин по числу дней нетрудоспособности, инвалидности и смертности [1].

ХОБЛ — хроническое заболевание респираторной системы, характеризующееся необратимой или частично обратимой обструкцией бронхиального дерева. Прогрессирующее нарушение вентиляции и газообмена легких по обструктивному типу при ХОБЛ про-

является неуклонно нарастающей дыхательной недостаточностью [2].

Известно, что ХОБЛ представляет собой мультифакториальное заболевание, в развитии которого, наряду с внешнесредовыми факторами (курение, загрязнение окружающей среды, профессиональная вредность, социально-экономический статус человека, возраст), важную роль играет и генетическая предрасположенность. Доказательством этого является избирательность развития ХОБЛ в группах риска, например, длительно курящих. На это указывает и то, что не все длительно курящие заболевают ХОБЛ [3]. В настоящее время единственным хорошо изученным генетическим фактором риска развития ХОБЛ является дефицит α_1 -антитрипсина, в основе которого лежит врожденный дефект в гене протеазного ингибитора PI [3]. Другие гены, имеющие отношение к патогенезу ХОБЛ, еще недостаточно исследованы. В связи с этим, выявление генетических маркеров ХОБЛ, анализ их ассоциации с тяжестью течения и прогнозом заболевания является актуальной задачей пульмонологии и клинической генетики. Исходя из современных представлений о патофизиологических механизмах ХОБЛ, можно выделить группы генов, нарушения структуры и функционирования которых могут вносить вклад в развитие ХОБЛ. К генам-кандидатам правомерно отнести гены, кодирующие ферменты системы протеолиза-антипротеолиза, биотрансформации ксенобиотиков, белки местной защиты, а также гены медиаторов воспаления — цитокинов [3, 4].

Сочетанное влияние факторов риска окружающей среды и генетической предрасположенности ведет к развитию хронического воспалительного процесса, который распространяется на все отделы дыхательных путей. Хроническое воспаление может сопровождаться деструкцией легочной ткани, что, в конечном итоге, приводит к эмфиземе, пневмосклерозу и прогрессирующему снижению функции внешнего дыхания. Развитие воспалительного процесса во многом определяется иммунологическим статусом. Доказано, что к основным патогенетическим факторам относятся нарушение функции системы местной бронхопульмональной защиты и системы иммунитета. Согласно исследованиям, для ХОБЛ, как при обострении, так и в период ремиссии воспалительного процесса, характерно увеличение числа нейтрофилов, альвеолярных макрофагов и цитотоксических Т-лимфоцитов, которые выделяют большое количество воспалительных медиаторов, в т. ч. провоспалительных цитокинов [4, 5]. Цитокины регулируют развитие местных защитных реакций в тканях с участием различных типов клеток крови, эндотелия, соединительной ткани и эпителия. Гиперпродукция цитокинов ведет к развитию системной воспалительной реакции и может служить причиной развития ряда патологических состояний. Известно, что интенсивность синтеза цитокинов может быть генетически обусловлена. На сегодняшний день описан полиморфизм генов многих цитокинов, отмечено

влияние различных вариантов генов на свойства и функционирование белковых продуктов их экспрессии [6–8]. Показано, что варианты генов цитокинов ассоциированы с восприимчивостью к аутоиммунным, аллергическим и инфекционным заболеваниям, особенностями и тяжестью их течения, а также с повышенным или, напротив, пониженным содержанием продуцируемых цитокинов [9, 10].

У больных ХОБЛ в мокроте, бронхоальвеолярном лаваже и в сыворотке обнаружены высокие концентрации фактора некроза опухолей- α (TNF- α) и IL-1 β , что, вероятно, отражает участие этих цитокинов как в местном, так и в системном воспалении при ХОБЛ [4, 5, 11]. TNF является мощным паракринным и аутокринным медиатором воспаления и иммунного ответа. Для многих типов клеток этот цитокин выступает как регулятор роста и дифференцировки. Однако при избыточной секреции TNF- α действует как фактор активации макрофагов и нейтрофилов, индуцируя синтез каскада интерлейкинов (IL), в котором наиболее важными являются IL-1, IL-6, IL-8, IL-10. Лимфотоксин- α (LTA) также является провоспалительным цитокином, но синтезируется преимущественно лимфоцитами. Его биологические свойства сходны с TNF. Оба цитокина связываются с одними и теми же рецепторами на поверхностях клеток (TNF-R55 и TNF-R75) [12, 13]. Семейство IL-1 состоит из двух цитокинов — IL-1 α и IL-1 β — и их рецепторного антагониста RAIL. У человека IL-1 β является основной секретируемой формой IL-1. Две формы IL-1 (α и β) являются продуктами различных генов, но структурно и функционально взаимосвязаны и имеют общие рецепторы. Оба цитокина синтезируются, главным образом, моноцитами и макрофагами, однако главной секретируемой формой IL-1 является IL-1 β , в то время как IL-1 α больше находится в связанной мембранной форме [9]. Биологическое действие IL-1 связано с активацией ядерных факторов транскрипции NF- κ B и AP-1, которые, в свою очередь, стимулируют синтез целого ряда молекул, участвующих в регуляции воспалительной реакции (например, главного хемокина, вовлеченного в патогенез ХОБЛ, — IL-8) [11].

Гены TNF и LTA, кодирующие соответствующие цитокины TNF- α и LTA, сцеплены и располагаются на коротком плече хромосомы 6 (6p21.1-6p21.3) в пределах кластеров главного комплекса гистосовместимости. В гене TNF описан диаллельный полиморфизм -308G/A, причем вдвое повышенный уровень экспрессии и секреции цитокина связывают с наличием в генотипе аллеля A [8]. При изучении полиморфизма +252A/G в первом интроне гена LTA в исследовании Messer *et al.* (1991) была выявлена ассоциация аллеля G с повышенным уровнем экспрессии LTA в периферических моноцитах крови в результате повышения уровня транскрипции гена [7]. Ген IL-1 β расположен на длинном плече хромосомы 2, в его промоторной области описан полиморфизм в положении 511 (-511C/T), приводящий к чрез-

мерной экспрессии гена IL-1 β , а следовательно, и к повышению уровня цитокина в сыворотке и мокроте [6, 14].

Целью исследования явилось изучение роли полиморфных вариантов генов, кодирующих TNF- α , LTA, IL-1, в формировании предрасположенности к ХОБЛ и особенностям клинического течения заболевания.

Материалы и методы

Нами обследованы 139 больных ХОБЛ, находящихся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГКБ № 21 г. Уфы. Обследование больных включало общеклинические, рентгенологические, иммунологические методы, а также оценку функции внешнего дыхания (ОФВ₁, ОФВ₁/ЖЕЛ и др.) с помощью спирометрии. Все больные были разделены на группы по тяжести течения заболевания согласно критериям GOLD [1]. При этом подавляющее количество больных — 61 человек (43,8 %) имели IV стадию ХОБЛ (крайне тяжелую форму), 40 человек (28,7 %) — III стадию (тяжелая форма), 38 человек (27,3 %) — II стадию (средняя степень тяжести). При разделении больных по полу преобладали мужчины — 84,9 % (118 человек), на долю женщин приходилось 15,1 % (21 человек). Средний возраст больных составил 62,52 \pm 12,23 года.

В контрольную группу вошли 216 не являющихся родственниками человек, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных и не имеющих в анамне-

зе заболеваний бронхолегочной системы, а также других хронических заболеваний.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови, используя стандартный метод фенол-хлороформной экстракции [15]. Анализ полиморфных локусов -308 G/A гена TNF, +252A/G гена LTA и -511C/T гена IL-1 β проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в стандартных условиях с последующим рестрикционным анализом. Для амплификации полиморфных участков ДНК использовали праймеры и условия, описанные ранее [13, 16]. Гидролиз амплифицированных фрагментов ДНК проводили рестриктазами фирмы "Сибэнзим" в стандартных условиях с использованием рестриктаз: Vsp19I для локусов генов TNF и LTA, Aта87I — для локуса -511C/T гена IL-1 β . Результаты амплификации и рестрикции оценивались путем проведения вертикального электрофореза в 8 % полиакриламидном геле. Гели окрашивали раствором бромистого этидия (0,1 мкг/мл) и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете.

Математическую обработку результатов исследования проводили с использованием статистической программы Statistica 5.0. В случае попарного сравнения выборок по частоте одного фенотипа использовали точный критерий Фишера. Достоверность различий в частотах встречаемости изучаемых признаков между группами определяли по критерию χ^2 с коррекцией Йетса [17]. О силе ассоциации генотипов с заболеванием судили по величине отношения шансов (odds ratio, OR) [18].

Таблица 1

Распределение генотипов по трем полиморфным локусам генов TNF, LTA, IL-1 β у больных ХОБЛ с различной степенью тяжести и статусом курения и в контрольной группе (абс., частота)

Группа больных	Локусы и генотипы											
	TNF -308 G/A				LTA +252A/G				IL-1 β -511C/T			
	GG	GA	AA	p	AA	AG	GG	p	CC	CT	TT	p
ХОБЛ $n = 139$	(96) 0,691	(43) 0,309	0	0,130	(62) 0,446	(65) 0,468	(10) 0,072	0,066	(44) 0,317	(73) 0,525	(22) 0,158	0,354
ХОБЛ II $n = 38$	(23) 0,605	(15) 0,395	0	0,397	(13) 0,342	(22) 0,597	(2) 0,053	0,069	(14) 0,368	(22) 0,579	(2) 0,053	0,056
ХОБЛ III $n = 40$	(30) 0,75	(10) 0,25	0	0,32	(17) 0,425	(22) 0,55	(1) 0,025	0,370	(11) 0,275	(20) 0,5	(9) 0,225	1,000
ХОБЛ IV $n = 61$	(43) 0,705	(18) 0,295	0	0,393	(32) 0,525	(21) 0,344	(7) 0,115*	0,013	(19) 0,311	(31) 0,508	(11) 0,180	0,760
ХОБЛ курящие $n = 104$	(71) 0,683	(33) 0,317	0	0,24	(48) 0,462	(47) 0,452	(9) 0,087*	0,040	(32) 0,308	(59) 0,567	(13) 0,125	0,156
ХОБЛ некурящие $n = 35$	(25) 0,714	(10) 0,285	0	0,63	(16) 0,457	(18) 0,514	(1) 0,029	0,730	(12) 0,343	(14) 0,4	(9) 0,257	0,500
Контроль	(133) 0,651	(65) 0,319	(6) 0,03		(117) 0,542	(93) 0,431	(6) 0,027		(57) 0,27	(108) 0,51	(45) 0,22	

Примечание: * — $p < 0,05$, по сравнению с контрольной группой.

Результаты

Распределение частот генотипов исследованных полиморфных локусов генов TNF, LTA и IL-1 β у больных ХОБЛ в целом, в группах больных с разными стадиями, а также согласно статусу курения представлены в табл. 1.

Как видно, при изучении распределения генотипов полиморфного локуса -308 G \rightarrow A гена TNF не выявлено достоверных различий ни для одной из исследуемых групп больных по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

В первом интроне гена LTA был изучен полиморфизм +252 A \rightarrow G. При анализе этого локуса у больных ХОБЛ обнаружено повышение частоты генотипа GG по сравнению с контрольной группой (7,2 % и 2,7 % соответственно, $\chi^2 = 2,98$, $p = 0,08$). Отмечена ассоциация между наличием мутантного аллеля G в гене LTA и степенью тяжести ХОБЛ. Так, у больных с более легкими, II и III стадиями, отмечается преобладание гетерозиготного генотипа AG (59,7 % и 55,0 % соответственно), тогда как у больных с резко выраженными нарушениями функций внешнего дыхания и признаками сердечной недостаточности (стадия IV) частота генотипа AG снижена до 34,4 % за счет увеличения доли мутантного генотипа GG до 11,5 %. Показатель отношения шансов, указывающий на риск развития крайне тяжелой формы ХОБЛ, составил 2,75 (OR = 2,75, 95%CI 0,9–8,7).

При анализе полиморфизма -511C/T в гене IL-1 β существенных различий по распределению генотипов между группой больных ХОБЛ и контрольной группой не выявлено ($\chi^2 = 1,7$, $p = 0,354$). Однако при

анализе генотипов у больных в зависимости от стадии заболевания обнаружено существенное увеличение частоты генотипа TT в группах с III и IV стадий ХОБЛ, на долю которых пришлось 90,4 % от всех больных с генотипом TT. Показатель отношения шансов, определяющий риск развития более тяжелой формы ХОБЛ, у гомозигот TT составил 4,4 (95%CI 0,92–29,13).

По статусу курения все больные ХОБЛ были разделены на группы из курильщиков (активных и бывших) и некурящих. Средний показатель курения составил 24,93 пачко-лет. Из общего числа больных ХОБЛ 61,9 % (86 человек) составили курильщики, 12,9 % (18) — бывшие курильщики и 25,2 % (35) — некурящие. Анализ полиморфизма генов цитокинов с учетом статуса курения показал, что распределение генотипов в гене TNF между курильщиками и некурящими больными ХОБЛ существенно не различалось ($\chi^2 = 0,12$, $p = 0,83$). У курильщиков мутантный генотип GG гена LTA встречался чаще, по сравнению с контрольной группой и с группой некурящих больных ХОБЛ (8,7, 2,7 и 2,9 % соответственно). Примечательно то, что самая высокая частота встречаемости этого генотипа была отмечена среди курильщиков с крайне тяжелым течением ХОБЛ (13 %, $\chi^2 = 7,68$, $p = 0,0065$). Таким образом, генотип GG в гене LTA в сочетании с таким фактором риска как курение значительно отягощает прогноз тяжести течения заболевания (OR = 5,21, 95%CI 1,48–18,52, по сравнению с контролем), в то время как в группе некурящих такой патогенетической роли данного генотипа не отмечено. Анализ гена IL-1 β выявил значительную диспропорцию в распределе-

Таблица 2

Анализ ассоциации комбинаций генотипов полиморфных локусов генов TNF и LTA у больных с различными стадиями ХОБЛ (абс., частота)

Группы	Комбинация генотипов								
	GG-AA	GG-AG	GG-GG	AA-AA	AA-AG	AA-GG	GA-AA	GA-AG	GA-GG
ХОБЛ $n = 139$	(56) 0,403	(37) 0,266	(3) 0,022	0	0	0	(8) 0,058	(28) 0,201	(7) 0,05*
ХОБЛ II $n = 38$	(12) 0,316	(10) 0,263	(1) 0,026	0	0	0	(2) 0,053	(12) 0,316	(1) 0,026 0,316
ХОБЛ III $n = 40$	(16) 0,4	(13) 0,325	(1) 0,025	0	0	0	(1) 0,025	(9) 0,225	0
ХОБЛ II и III $n = 78$	(28) 0,358	(23) 0,295	(2) 0,026	0	0	0	(3) 0,038	(21) 0,269**	(1) 0,013
ХОБЛ IV $n = 61$	(28) 0,459	(14) 0,230	(1) 0,016	0	0	0	(5) 0,082	(7) 0,115	(6) 0,098**
Контроль $n = 201$	(85) 0,423	(45) 0,224	(3) 0,015	(2) 0,01	(3) 0,015	(1) 0,005	(20) 0,100	(40) 0,199	(2) 0,01

Примечание: * — $p < 0,05$, по сравнению с контрольной группой; ** — $p < 0,05$ — стадия IV, по сравнению со стадиями II и III.

нии гомозиготных по мутации генотипов ТТ. Так, среди курящих больных его доля составила только 12,5 %, а среди некурящих — 25,7 %.

Поскольку гены TNF и LTA расположены на одной хромосоме и их продукты функционально относятся к одной системе медиаторов воспаления, целесообразным представлялось проведение анализа ассоциаций сочетаний генотипов с риском развития ХОБЛ (табл. 2). У больных со II и III стадиями ХОБЛ доля индивидов с комбинацией гетерозиготных генотипов (GA-AG) по обоим генам составила в среднем 26,9 %, тогда как в группе больных с IV стадией ХОБЛ — только 11,5 % ($\chi^2 = 4,16$, $p = 0,04$). Таким образом, комбинация генотипов GA/AG является маркерной для более легкого течения ХОБЛ и протективной для развития крайне тяжелой формы заболевания (OR = 0,35, 95%CI 0,12–0,96).

Преобладание гетерозиготного варианта в гене TNF в сочетании с мутацией в гене LTA в гомозиготном состоянии (GA-GG) оказалось характерным для больных с IV стадией ХОБЛ, доля которого составила 10 %, в то время как в группах больных II и III стадиями — только 1,3 % ($\chi^2 = 3,6$, $p = 0,058$). Соответственно, риск развития крайне тяжелой формы ХОБЛ при наличии данного генотипа оказался выше в 8,4 раза (OR = 8,4, 95%CI 0,95–193,59). Поскольку распределение комбинаций TNF-LTA различно у больных с разными стадиями ХОБЛ, для каждой стадии можно выделить комбинацию генотипов, которая является для нее маркерной.

Обсуждение

С целью выявления генетических маркеров, ассоциированных с вариантами клинического течения ХОБЛ, проведено изучение полиморфных вариантов генов, кодирующих TNF- α , LTA, IL-1 β . При изучении полиморфизма -308G/A гена TNF различия между больными и контрольной группой оказались не достоверными. Сравнение полученных результатов с опубликованными данными показало, что распределение генотипов в гене TNF у больных ХОБЛ из Уфы не отличается от наблюдаемого у больных ХОБЛ европейского происхождения [19–21]. Однако у больных ХОБЛ из Японии и Кореи (монголоиды) обнаружены значительные ассоциации аллеля А гена TNF с заболеванием [22, 23], что связано с низкой его частотой в соответствующей контрольной группе (0,8–7,8 %) [13]. Кроме того, на экспрессию TNF- α могут оказывать влияние и другие мутации в гене TNF. Так, *Кисикаусан et al.* (2002), проанализировав 4 полиморфных варианта гена TNF, обнаружили, что полиморфизм +469G/A ассоциирует с ХОБЛ, а -308G/A, -376G/A, -238G/A не вовлечены в развитие болезни [21].

Молекулярно-генетический анализ полиморфизма гена LTA показал, что у больных со II и III стадиями ХОБЛ преобладает гетерозиготный генотип AG, в то время как у больных с IV стадией ХОБЛ увеличена

частота генотипа GG. Полиморфизм +252A/G гена LTA также ранее был исследован *Patuzzo et al.* (2000) на выборке больных с ХОБЛ из Италии [13]. Однако в цитируемой работе связи между заболеваниями и полиморфными вариантами генов TNF и LTA выявлено не было: частота мутантного аллеля G гена LTA у больных и в контрольной группе составляла около 30 %. В работе *Ferrarotti et al.* (2003) также не было найдено различий в частотах генотипов между здоровыми курильщиками и больными ХОБЛ среднетяжелого течения с признаками эмфиземы [12]. Возможно, это было связано с недостаточными объемами выборок. Вместе с тем *Yamaguchi et al.* (2001) исследовали данный полиморфизм у больных саркоидозом из Японии и обнаружили, что аллель G является маркером затяжного течения болезни [10]. Для аллеля G гена LTA показано, что он ассоциирован с более высокой секрецией не только LTA, но также и TNF- α , поскольку гены LTA и TNF сцеплены.

При анализе полиморфизма -511C/T в гене IL-1 β обнаружено, что при наличии генотипа ТТ риск развития крайне тяжелой формы ХОБЛ (стадия IV) оказался повышен в 4,4 раза. В отличие от данных, полученных в нашей работе, при изучении полиморфизма С-511Т в гене IL-1 β у больных ХОБЛ из Японии и США существенных различий ни для одной из групп больных не было выявлено [16, 24]. Для больных ХОБЛ европейского происхождения *Joos et al.* (2001) было показано, что аллель Т является рисковым, но только в сочетании с определенным вариантом минисателлитного полиморфизма гена PA1L [6]. *Karjalainen J. et al.* (2002) исследовали этот полиморфизм у некурящих больных астмой и обнаружили ассоциацию того же аллеля Т в сочетании с другим вариантом в гене PA1L с быстрым падением ОФВ₁ [25].

Что касается анализа полиморфизма генов цитокинов в зависимости от статуса курения, возможным объяснением полученных результатов может быть неодинаковое воздействие табачного дыма на клетки, которые продуцируют провоспалительные цитокины IL-1b и LTA, а также различное их участие в патогенезе воспаления при ХОБЛ у курящих и некурящих больных.

Таким образом, в нашем исследовании впервые описаны генотипы генов LTA и IL-1 β , а также комбинации генотипов генов TNF и LTA, маркирующие тяжесть клинического течения заболевания. Возможно, что эти генетические маркеры могут служить критерием дифференциации больных для адекватного выбора терапевтических мероприятий, в т. ч. противовоспалительной терапии при обострениях ХОБЛ.

Выводы

1. Полиморфизм генов TNF, LTA и IL-1 β увеличивает риск развития ХОБЛ в зависимости от тяжести течения заболевания и статуса курения.

2. Выявлена ассоциация тяжелой формы ХОБЛ с генотипом GG гена LTA, гомозиготным вариантом TT гена IL-1 β и комбинацией генотипов GA-GG (гетерозиготного варианта в гене TNF в сочетании с мутацией в гене LTA в гомозиготном состоянии), что позволяет использовать изученные полиморфизмы в качестве генетических маркеров развития тяжелого течения заболевания.
3. Для более легкого течения ХОБЛ маркером является комбинация генотипов GA/AG генов TNF и LTA, которая является протективной для развития крайне тяжелой формы ХОБЛ.
4. Показано, что такой существенный экзогенный фактор, как статус курения, в сочетании с генотипом GG гена IL-1 β может влиять на тяжесть течения заболевания и являться прогностически неблагоприятным маркером.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г. (ред.). Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких: Пер. с англ. М.: Атмосфера; 2003.
2. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. М.: БИНОМ; 1999.
3. Joos L., Pare P., Sanford A. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Swiss. Med. Wkly.* 2002; 132: 27-37.
4. Chung K.F. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* 2001; 34 (suppl.): 50-59.
5. Keatings V.M., Collins P.D., Scott D.M. et al. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 153: 530-534.
6. Hurme M., Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1RA and IL-1 β genes. *Eur. J. Immunol.* 1998; 28: 2598-2602.
7. Messer G., Spengler U., Jung M.C. Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: An NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF- β gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF- β production. *J. Exp. Med.* 1991; 173: 209.
8. Wilson A.G., di Giovine F.S., Blakemore A.I. et al. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF- α) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum. Mol. Genet.* 1992; 1: 353.
9. Dinarello C.A., Wolff S.M. The role of interleukin-1 in disease. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328: 106-113.
10. Yamaguchi E., Itoh A., Hizawa N. et al. The gene polymorphism of tumor necrosis factor- β , but not that of tumor necrosis factor- α , is associated with the prognosis of sarcoidosis. *Chest* 2001; 119: 753-761.
11. Brandolini L., Sergi R., Caselli G. et al. Interleukin-1 beta primes interleukin-8-stimulated chemotaxis and elastase release in human neutrophils via its type I receptor. *Eur. Cytokine Network* 1997; 8: 173-178.
12. Ferrarotti I., Zorzetto M., Beccaria M. et al. Tumour necrosis factor family genes in a phenotype of COPD associated with emphysema. *Eur. Respir. J.* 2003; 21 (3): 444-449.
13. Patuzzo C., Gile L.S., Zorzetto M. et al. Tumor necrosis factor gene complex in COPD and disseminated bronchiectasis. *Chest* 2000; 117: 1353-1358.
14. di Giovine F.S., Takhsh E., Blakemore A.I. et al. Single base polymorphism at - 511 in the human interleukin-1 β gene (IL-1 β). *Hum. Mol. Genet.* 1992; 1: 450.
15. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA. In: Walker J.M., ed. *Methods in molecular biology*. New York; London: Human Press; 1984; vol. 2: 31-34.
16. Joos L., McIntyre L., Ruan J. et al. Association of IL-1 β and IL-1 receptor antagonist haplotypes with rate of decline in lung function in smokers. *Thorax* 2001; 56 (11): 863-866.
17. Roff D.F., Bentzen P. The statistical analysis of mitochondrial DNA: χ^2 and problem of small samples. *Mol. Biol. Evol.* 1989; 6: 539-545.
18. Schlesselman J. *Case-control studies. Design, conduct, analysis*. New York; Oxford: Oxford University Press; 1982. 58-96.
19. Higham M.A., Pride N.B. et al. Tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphism in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* 2000; 15: 281-284.
20. Keatings V.M., Cave S.J., Henry M.J. et al. A polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter region may predispose to a poor prognosis in COPD. *Chest* 2000; 118: 971-975.
21. Kucukaycan M., Van Krugten M., Pennings H.-J. et al. Tumor necrosis factor- α +489G/A gene polymorphism is associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Res.* 2002; 3: 29.
22. Huang S.L., Su C.H., Chang S.C. Tumor necrosis factor- α gene polymorphism in chronic bronchitis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156: 1436-1439.
23. Sakao S., Tatsumi K., Igari H. et al. Association of tumor necrosis factor alpha gene promoter polymorphism with the presence of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163: 420-422.
24. Ishii T., Matsuse T., Teramoto S. et al. Neither IL-1 β , IL-1 receptor antagonist, nor TNF- α polymorphisms are associated with susceptibility to COPD. *Respir. Med.* 2000; 94: 847-851.
25. Karjalainen J., Hulkkonen J., Hurme M. IL-1 haplotypes and lung function decline. *Thorax* 2002; 57 (6): 561-562.

Поступила 09.03.04