

УДК 575:599.9

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ *MMP3*, *MMP9*, *ADAM33* И *TIMP3* С РАЗВИТИЕМ И ПРОГРЕССИРОВАНИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

© 2012 г. Г. Ф. Корытина^{1*}, О. С. Целоусова^{1,2}, Л. З. Ахмадишина¹,
Е. В. Викторова³, Ш. З. Загидуллин², Т. В. Викторова^{1,2}

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа 450054

²Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, 450000

³George-August University of Goettingen, Goettingen, Germany

Поступила в редакцию 30.09.2011 г.

Принята к печати 27.10.2011 г.

С целью выявления ассоциации полиморфных вариантов генов *MMP1* (–1607G>GG, rs1799750; –519A>G, rs494379), *MMP2* (–735C>T, rs2285053), *MMP3* (–1171 5A>6A, rs35068180), *MMP9* (–1562C>T, rs3918242; 2660A>G, rs17576), *MMP12* (–82A>G, rs2276109), дисинтегриновой металлопротеиназы *ADAM33* (12418A>G, rs2280091; 13491 C>G, rs2787094) и тканевых ингибиторов металлопротеиназ *TIMP2* (–418G>C, rs8179090), *TIMP3* (–1296T>C, rs9619311) с развитием и прогрессированием хронической обструктивной болезни легких проведен ПЦР-ПДФ-анализ полиморфных локусов в группах больных (391 человек) и здоровых индивидов (514 человек). Выявлена ассоциация с хронической обструктивной болезнью легких генотипа 6A6A полиморфного локуса –1171 5A>6A гена *MMP3* ($OR = 2.49$, $P_{adj} = 0.003979$, $P_{cor} = 0.0358$ с учетом возраста, индекса курения, пола и этнической принадлежности) и гаплотипа G-G гена *ADAM33* по локусам 13491C>G и 12418A>G ($OR = 0.39$, $P_{adj} = 0.0012$, $P_{cor} = 0.006$). Выявлено значимое взаимодействие генетических и средовых факторов (статуса курения) с локусами *ADAM33* 12418A>G ($P_{interact} = 0.026$) и *TIMP3* –1296T>C ($P_{interact} = 0.044$). Риск развития эмфиземы легких повышен у больных, носителей генотипа GG локуса *ADAM33* 13491C>G ($OR = 1.74$, $P_{adj} = 0.013$, $P_{cor} = 0.117$). В аддитивной модели локус *MMP9* –1562C>T модифицирует тяжесть заболевания ($OR = 1.883$, $P_{adj} = 0.028$, $P_{cor} = 0.252$). Установлена значимость полиморфных локусов генов *MMP3*, *MMP9*, *ADAM33* и *TIMP3* как маркеров риска развития хронической обструктивной болезни легких, определены патогенетически важные эффекты ген-средовых взаимодействий в развитии заболевания. Полученные результаты способствуют пониманию структуры наследственной предрасположенности к развитию хронической обструктивной болезни легких.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, ассоциация, ген-средовые взаимодействия, матриксные металлопротеиназы, дисинтегриновая металлопротеиназа, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ.

ASSOCIATION OF THE *MMP3*, *MMP9*, *ADAM33* AND *TIMP3* GENES POLYMORPHIC MARKERS WITH DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE, by G. F. Korytina^{1*}, O. S. Tselousova^{1,2}, L. Z. Akhmadishina¹, E. V. Viktorova³, Sh. Z. Zagidullin², T. V. Viktorova^{1,2} (¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Ufa, 450054 Russia; *e-mail: ecolab_203@mail.ru; ²Bashkortostan State Medical University, Ufa, 450000 Russia; ³George-August University of Goettingen, Goettingen, Germany). The contribution of the polymorphic markers of the matrix metalloproteinases *MMP1* (–1607G>GG, rs1799750; –519A>G, rs494379), *MMP2* (–735C>T, rs2285053), *MMP3* (–1171 5A>6A, rs35068180), *MMP9* (–1562C>T, rs3918242; 2660A>G, rs17576), *MMP12* (–82A>G, rs2276109), the disintegrin and metalloprotease 33 *ADAM33* (12418A>G, rs2280091; 13491C>G, rs2787094), the tissue inhibitors of metalloproteinases *TIMP2* (–418G>C, rs8179090), *TIMP3* (–1296T>C, rs9619311) genes to chronic obstructive pulmonary disease has been assessed. For this purpose, PCR–RFLP analysis of the gene polymorphisms in case ($N = 391$) and control ($N = 514$) groups has been performed. The 6A6A genotype of the *MMP3* –1171 5A>6A polymorphism was associated with significantly high

Принятые сокращения: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; MMP – матриксные металлопротеиназы; ADAM – дисинтегриновая металлопротеиназа; TIMP – тканевые ингибиторы металлопротеиназ; ВКМ – внеклеточный матрикс; OR – отношение шансов (odds ratio); 95%CI – 95% доверительный интервал.

*Эл. почта: Guly_Kory@mail.ru

risk of chronic obstructive pulmonary disease ($OR = 2.490$, $P_{adj} = 0.003979$, $P_{cor} = 0.0358$ adjusted for age, sex, smoke pack-years, ethnoses). Analysis showed an association of the G-G haplotype of 13491C>G and 12418A>G *ADAM33* gene polymorphisms ($OR = 0.39$, $P_{adj} = 0.0012$, $P_{cor} = 0.006$) with chronic obstructive pulmonary disease. We found a significant interaction of the smoking status and *ADAM33* 12418A>G ($P_{interaction} = 0.026$) and *TIMP3* –1296T>C ($P_{interaction} = 0.044$). The relationship between the GG genotype of the *ADAM33* 13491C>G and emphysema risk was found ($OR = 1.74$, $P_{adj} = 0.013$, $P_{cor} = 0.117$). Severity of chronic obstructive pulmonary disease was modified by *MMP9* –1562C>T in additive model ($OR = 1.883$, $P_{adj} = 0.028$, $P_{cor} = 0.252$). The *MMP3*, *MMP9*, *ADAM33*, *TIMP3* genes polymorphism may be an important risk factor for the development and progression of chronic obstructive pulmonary disease, important gene and environmental interactions were determined.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, association, gene and environmental interactions, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases.

Понимание природы заболеваний человека во многом зависит от выявления особенностей генома, создающих предпосылки для формирования патологического фенотипа [1]. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – многофакторное воспалительное заболевание с преимущественным поражением дистальных отделов дыхательных путей и легочной паренхимы. Для ХОБЛ характерно развитие эмфиземы и частично обратимой бронхиальной обструкции с последующим прогрессированием и нарастанием явлений дыхательной недостаточности [2]. Многие аспекты развития ХОБЛ до сих пор не ясны, но существуют ключевые механизмы, вовлеченные в патогенез заболевания. Это, прежде всего, хроническое воспаление, которое запускает каскад реакций, приводящих к нарушению баланса протеолитических ферментов и их ингибиторов и развитию окислительного стресса [3].

Матриксные металлопротеиназы (ММП) и дисинтегриновые металлопротеиназы (ADAM) – структурно и функционально взаимосвязанная группа протеолитических ферментов, разлагающих компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ) [4, 5]. Семейство ММП состоит из 26 цинк-содержащих эндопептидаз [4, 5]. Все ММП обладают структурным сходством, но различаются профилем экспрессии и субстратной специфичностью [4, 5]. Продукция ММП регулируется на уровне транскрипции, а также различными факторами роста и цитокинами [4–6]. Активность ММП зависит от взаимодействия с тканевыми и сывороточными ингибиторами протеаз [4, 5]. ММП обладают специфической активностью в отношении компонентов ВКМ, обеспечивают миграцию лейкоцитов через сосудистую стенку и процессы ремоделирования воздухоносных путей и разрушения альвеолярных структур [6]. В легких ММП секретируются альвеолярными макрофагами и эпителиальными клетками. Дополнительным источником ММП в легочной ткани могут быть нейтрофилы, мигрирующие в легкие при формировании воспалительного ответа [7]. Гены *MMP* картированы на хромосомах 1, 8, 11, 14, 16, 20 и 22,

большинство из них образуют кластер на длинном плече хромосомы 11 (*MMP1*, *MMP3*, *MMP7*, *MMP8*, *MMP10*, *MMP12*, *MMP13* и *MMP20*) [7]. *ADAM33* входит в семейство ADAM – мембрано-связанных ферментов, входящих в семейство адамализинов подкласса цинк-зависимых металлопротеиназ. ADAM участвуют в процессах межклеточных взаимодействий (адгезия, слияние, клеточная сигнализация) и протеолиза [8]. Семейство тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (TIMP) включает группу ферментов (*TIMP1*, *TIMP2*, *TIMP3* и *TIMP4*), играющих ключевую роль в поддержании гомеостаза ВКМ за счет регуляции активности ММП [9]. TIMP взаимодействуют с ММП, образуя комплексы с небольшими вариациями сродства к различным ММП [9].

Цель работы состояла в выявлении ассоциации полиморфных вариантов генов *MMP1* (–1607G>GG, rs1799750) и (–519A>G, rs494379), *MMP2* (–735C>T, rs2285053), *MMP3* (–1171 5A>6A, rs35068180), *MMP9* (–1562C>T, rs3918242) и (2660A>G, rs17576), *MMP12* (–82A>G, rs2276109), дисинтегриновой металлопротеиназы *ADAM33* (12418A>G, rs2280091) и (13491C>G, rs2787094), *TIMP2* (–418G>C, rs8179090), *TIMP3* (–1296T>C, rs9619311) с развитием ХОБЛ у жителей Республики Башкортостан.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали образцы ДНК 905 неродственных жителей Республики Башкортостан. Диагноз ХОБЛ устанавливали согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) и с учетом рекомендаций Global initiative for chronic obstructive lung disease пересмотра 2010 г. (GOLD, 2010) [3]. В контрольную группу вошли практически здоровые жители Республики Башкортостан – без патологии дыхательной системы в анамнезе и без профессионального контакта с вредными химическими веществами. Характеристика групп приведена в табл. 1. С целью выявления ассоциации полиморфных локусов с тяжестью течения, временем появления симпто-

Таблица 1. Характеристика групп

Параметр	ХОБЛ	Контроль	<i>P</i>
Пол абс. (%)			
М	312 (79.79)	417 (81.13)	0.677
Ж	79 (20.21)	97 (18.87)	
Возраст (лет), $M \pm m$	61.3 ± 12.7	55.822 ± 7.22	0.0001
Этническая принадлежность, абс. (%)			
Татары	183 (46.80)	279 (54.28)	0.031
Русские	208 (53.2)	235 (45.72)	
Индекс курения (пачка-лет), $M \pm m$ для курящих	35.5 ± 21.41	13.19 ± 8.087	0.0001
Индекс курения (пачка-лет), $M \pm m$ с учетом некурящих	24.15 ± 24.21	12.11 ± 15.77	0.0001
Статус курения, абс. (%)			
Курящие/бывшие курящие	267 (68.29)	348 (67.70)	0.909
Некурящие	124 (31.71)	166 (32.3)	
Данные спирографии, % от должного ± <i>m</i>			
ОФВ1	41.68 ± 19.32		
ОФВ1/ФЖЕЛ	58.66 ± 13.66	н/д	—
ЖЕЛ	50.86 ± 19.99		
ФЖЕЛ	44.22 ± 17.88		
Средний возраст манифестации ХОБЛ (лет), $M \pm m$	49.2 ± 14.75	—	—
Всего	391	514	—

Примечание. н/д – нет данных; ЖЕЛ – жизненная емкость легких; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха в 1с; ОФВ₁/ЖЕЛ – соотношение объем форсированного выдоха за 1 с и жизненной емкости легких.

мов заболевания (возраст манифестации) и развитием эмфиземы легких внутри выборки больных выделяли следующие подгруппы: ХОБЛ с эмфиземой легких ($N = 202$) и ХОБЛ без эмфиземы легких ($N = 189$); группа с тяжелой ХОБЛ ($N = 296$), включающая больных с IV стадией заболевания и осложнениями в виде пневмосклероза и/или эмфиземы легких, и ХОБЛ средней тяжести ($N = 95$), в которую вошли больные с ХОБЛ стадий II и III без осложнений; больные ХОБЛ с ранней манифестацией заболевания (до 40 лет, средний возраст манифестации 29.92 ± 10.68 лет) и группа с поздней манифестацией ХОБЛ (после 40 лет, средний возраст манифестации 56.01 ± 8.79 лет). Проведение работы одобрено комитетом по этике Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН. От всех участников получено информированное добровольное согласие на использование биологического материала в планируемых исследованиях.

ПЦР-ПДРФ-анализ. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием фенольно-хлороформной экстракции. Полиморфные локусы генов *MMP1* (–1607 G>GG, rs1799750) и (–519A>G, rs494379), *MMP2* (–735C>T, rs2285053), *MMP3* (–1171 5A>6A, rs35068180), *MMP9*

(–1562C>T, rs3918242) и (2660A>G, rs17576), *MMP12* (–82A>G, rs2276109), *ADAM33* (12418A>G, rs2280091) и (13491 C>G, rs2787094), *TIMP2* (–418G>C, rs8179090), *TIMP3* (–1296T>C, rs9619311) анализировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим расщеплением рестриктазами MroXI, KpnI, HinfI, Tth111I, SphI, SmaI, PvuII (СибЭнзим, Россия), NcoI, Eco88I (“Fermentas,” Литва), AluBI (СибЭнзим) в условиях, рекомендованных фирмами-производителями. ПЦР проводили на амплификаторе производства компании “ДНК-технология” в стандартных условиях с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* (“СибЭнзим” и “Силекс”). Олигонуклеотидные праймеры и методы идентификации полиморфных аллелей описаны ранее [10–16]. Результаты амплификации и рестрикции оценивали при помощи вертикального электрофореза в 6–8%-м полиакриламидном геле (соотношение акриламида и метиленбисакриламида 29 : 1) в Трис-боратном буфере (ТВЕ) при напряжении 200–300 В (10 В/см). 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 исполь-

зовали маркер молекулярной массы с шагом 100 п.н. ("СибЭнзим").

Статистическая обработка результатов. Вычисляли средние величины количественных показателей и их стандартные ошибки ($M \pm m$); сравнение групп проводили с помощью непараметрического U-теста Манна–Уитни. При сравнении частот качественных признаков использовали критерий Пирсона (χ^2). Статистическую обработку проводили в программе BIOSTAT (Primer of Biostatistics version 4.03) [17]. Оценивали частоты редкого аллеля (minor allele frequency, MAF), соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга (χ^2) определяли в программе PLINK v. 1.07 [18]. Анализ ассоциации с использованием базового аллельного теста и расчета показателя отношения шансов (OR) для редкого аллеля каждого локуса, статистическую значимость различий между группами по частотам аллелей и генотипов (тест χ^2 на гомогенность выборок и значение P -value для теста) проводили в программе PLINK v. 1.07 [18]. Статистически значимыми считали различия при $P < 0.05$. Для минимизации статистической ошибки первого типа вводили поправку на множественность сравнений (поправка Бонферрони): значение P умножали на число полиморфных локусов ($n = 9$) (или $n = 5$ в случае анализа гаплотипов сцепленных локусов), отобранных для анализа ассоциации, и получали новое значение $P_{\text{кор}}$. Учитывая этническую гетерогенность выборок, использовали тесты Кохрана–Мантеля–Хензеля и Бреслоу–Дэя, а также тест на гомогенность OR, предусмотренные в пакете программ PLINK v. 1.07, которые позволяли оценить ассоциацию аллелей полиморфных локусов в стратифицированной выборке. Логистическую регрессию использовали для выявления ассоциации полиморфных локусов и гаплотипов сцепленных локусов в различных моделях (аддитивной, доминантной, рецессивной, модели сверхдоминирования) с учетом количественных и бинарных признаков (пол, возраст, возраст манифестации заболевания, этническая принадлежность, статус и индекс курения), вводимых в уравнение регрессии в качестве независимых переменных. Гипотезу о значимости независимых факторов проверяли на основе коэффициента t -статистики и уровня значимости (P -value) для коэффициента t . Экспоненту отдельного коэффициента регрессии (β) интерпретировали как OR для логистической модели с расчетом 95%-го доверительного интервала (95%CI). Гипотезу о существенности построенной модели с учетом всех переменных проверяли на основании теста отношения правдоподобия и его значимости (P_{adj}). Лучшую модель выбирали с использованием информационного критерия Акайке (AIC). Для каждого локуса из статистически значимых

($P_{\text{adj}} < 0.05$) выбирали модели с наименьшим значением AIC. Оценку взаимодействия генетических и средовых факторов (курения) оценивали при помощи регрессионного анализа, который проводили с использованием пакетов программ PLINK v. 1.07 и SNPStats [18, 19]. Частоты гаплотипов и величину стандартизованного коэффициента неравновесия по сцеплению (D'), а также различия в частотах гаплотипов между группами рассчитывали в программе Haploview 4.2 [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прежде чем приступить к анализу ассоциации генов-кандидатов с развитием ХОБЛ, проверяли соответствие распределения частот генотипов полиморфных локусов равновесию Харди–Вайнберга, а также оценивали частоты редкого аллеля (minor allele frequency, MAF) как в смешанной выборке (больные и контроль), так и отдельно в каждой группе. В контрольной группе получены следующие результаты: *MMP1* –1607G>GG ($P = 0.0484$, $MAF = 0.402$) и *MMP1* –519A>G ($P = 1.88 \times 10^{-8}$, $MAF = 0.409$), *MMP2* –735C>T ($P = 0.4984$, $MAF = 0.102$), *MMP3* –1171 5A>6A ($P = 0.1466$, $MAF = 0.079$), *MMP9* –1562C>T ($P = 0.8805$, $MAF = 0.12$) и *MMP9* 2660A>G ($P = 0.0382$, $MAF = 0.331$), *MMP12* –82A>G ($P = 0.3045$, $P = 0.096$), *ADAM33* 12418A>G ($P = 0.9005$, $MAF = 0.192$) и *ADAM33* 13491C>G ($P = 0.3524$, $MAF = 0.361$), *TIMP2* –418G>C ($P = 1.00$, $MAF = 0.006$), *TIMP3* –1296T>C ($P = 0.6087$, $MAF = 0.267$). Из анализа ассоциации с развитием ХОБЛ были исключены локусы *MMP1* –519A>G, у которого выявлены значительные отклонения от равновесия Харди–Вайнберга ($P = 1.88 \times 10^{-8}$), и *TIMP2* –418G>C с частотой редкого аллеля менее 1% ($MAF = 0.006$).

Ассоциация полиморфных локусов с развитием ХОБЛ

Проведен базовый анализ ассоциации полиморфных локусов с развитием ХОБЛ, основанный на сравнении частот аллелей в группах больных и здоровых индивидов (табл. 2). Выявлена ассоциация двух локусов с развитием ХОБЛ – *MMP3* –1171 5A>6A ($P = 0.00069$, $P_{\text{кор}} = 0.00621$, $OR = 2.390$) и *ADAM33* 12418A>G ($P = 0.03078$, $P_{\text{кор}} = 0.277$, $OR = 1.370$). На следующем этапе ассоциацию анализировали с использованием различных моделей. Локус *MMP3* –1171 5A>6A ассоциирован с развитием ХОБЛ в доминантной ($P = 0.0007$, $P_{\text{кор}} = 0.0063$, $OR = 0.400$) и аддитивной моделях ($P = 0.00071$, $P_{\text{кор}} = 0.0064$, $OR = 0.400$). Маркером риска развития ХОБЛ служит генотип 6A6A ($OR = 2.490$) локуса *MMP3* –1171 5A>6A. Доля гетерозиготных носителей локуса *ADAM33* 12418A>G повышена среди здоровых индивидов

Таблица 2. Анализ ассоциации полиморфных локусов генов протеолитической системы и тканевых ингибиторов протеаз с развитием ХОБЛ

Ген, локус	Редкий аллель	N	Тест/модель	ХОБЛ, абс. (%)	Контроль, абс. (%)	P	OR	L95	U95	
<i>MMP1</i> -1607G>GG rs1799750	GG	775	Аллель	332/450 (42.46/57.54)	304/464 (39.58/60.42)	0.2504	1.126	0.919	1.379	
			Генотип	79/174/138 (20.20/44.50/35.29)	70/164/150 (18.23/42.71/39.06)	0.5283	—	—	—	—
			Аддитивная	—	—	0.2731	1.114	0.918	1.352	
<i>MMP3</i> -1171 5A>6A rs35068180	5A	746	Аллель	22/760 (2.81/97.19)	46/664 (6.48/93.52)	0.00069	0.417 2.390	0.248 1.381	0.701 4.153	
			Генотип	0/22/369 (0/5.63/94.37)	0/46/309 (0/12.96/87.04)	0.0007	—	—	—	
			Доминантная (6A6A)	22/369	46/309	0.0007	0.400 2.49	0.228 1.420	0.701 4.390	
<i>MMP12</i> -82A>G rs2276109	G	827	Аллель	82/700 (10.49/89.51)	85/787 (9.75/90.25)	0.0007	0.400	0.235	0.680	
			Генотип	0/82/309 (0/20.97/79.03)	2/81/353 (0.46/18.58/80.96)	0.288	—	—	—	
			Аддитивная	—	—	0.6029	1.093	0.782	1.527	
<i>MMP2</i> -735C>T rs2285053	T	699	Аллель	74/708 (9.46/90.54)	63/553 (10.23/89.77)	0.6332	0.917	0.644	1.307	
			Генотип	3/68/320 (0.77/17.39/81.84)	5/53/250 (1.62/17.21/81.17)	0.572	—	—	—	
			Аддитивная	—	—	0.6368	0.919	0.647	1.305	
<i>ADAM33</i> 13491C>G rs2787094	C	675	Аллель	281/501 (35.93/64.07)	207/361 (36.44/63.56)	0.8473	0.978	0.781	1.225	
			Генотип	47/187/157 (12.02/47.83/40.15)	32/143/109 (11.27/50.35/38.38)	0.8083	—	—	—	
			Аддитивная	—	—	0.8426	0.976	0.774	1.232	

Таблица 2. Окончание

Ген, локус	Редкий аллель	N	Тест/модель	ХОБЛ, абс. (%)	Контроль, абс. (%)	P	OR	L95	U95
<i>ADAM33</i> 12418A>G rs2280091	G	680	Аллель	112/670 (14.32/85.68)	108/470 (18.69/81.31)	0.0307	0.727	0.544	0.971
			Генотип	13/86/292 (3.32/21.99/74.68)	11/86/192 (3.81/29.76/66.44)	0.0591	—	—	—
			Сверхдоминирование	86/305	86/203	0.027	0.660	0.433	0.9568
			Доминантная (AA)	99/292	97/192	0.01896	0.670	0.474	0.951
<i>MMR9</i> —1562C>T rs3918242	T	825	Рецессивная	13/378	11/278	0.7366	—	—	—
			Аддитивная	—	—	0.03737	0.741	0.559	0.982
			Аллель	97/685 (12.40/87.60)	110/758 (12.67/87.33)	0.8693	0.975	0.728	1.307
			Генотип	6/85/300 (1.53/21.74/76.73)	6/98/330 1.38/22.58/76.04)	0.9459	—	—	—
<i>MMR9</i> 2660A>G rs17576	G	671	Аддитивная	—	—	0.8686	0.975	0.727	1.308
			Аллель	250/532 (31.97/68.03)	192/368 (34.29/65.71)	0.3733	0.901	0.715	1.134
			Генотип	39/172/180 (9.97/43.99/46.04)	24/144/112 (8.57/51.43/40.00)	0.1632	—	—	—
			Аддитивная	—	—	0.3571	0.894	0.704	1.135
<i>TIMP3</i> —1296T>C rs9619311	C	684	Аллель	180/602 (23.02/76.98)	157/429 (26.79/73.21)	0.1089	0.817	0.638	1.046
			Генотип	24/132/235 (6.14/33.76/60.10)	19/119/155 (6.48/40.61/52.90)	0.1572	—	—	—
			Аддитивная	—	—	0.1116	0.818	0.639	1.048
			Аддитивная	—	—	—	—	—	—

Примечание. Здесь и далее: N — число индивидов, включенных в регрессионный анализ, OR — отношение шансов, L95 — нижняя граница 95% доверительного интервала (95%CI) для OR; U95 — верхняя граница 95%CI доверительного интервала для OR. Генетические модели и тесты, используемые при анализе ассоциации: если редкий аллель — D, частый аллель — d. Аллели — базовый аллельный тест (D против d); генотипы — сравнение по частоте генотипов (DD против Dd против dd); аддитивная модель — аддитивный тест на дозу редкого аллеля (увеличение дозы редкого аллеля в ряду: dd (0)>Dd (1)>DD (2)); модель сверхдоминирования (Dd против DD, dd); доминантная модель (DD, Dd против dd); рецессивная модель (DD против Dd, dd).

(29.76 против 21.99% в группе больных, $P = 0.027$, $P_{\text{cor}} = 0.243$, $OR = 0.660$). Риск развития ХОБЛ возрастает у гомозиготных носителей частого аллеля АА ($OR = 1.490$, $P = 0.01896$, $P_{\text{cor}} = 0.1706$).

Тест Кохрана–Мантеля–Хензеля, позволяющий учитывать ассоциации в стратифицированной по этническому происхождению выборке, выявил ассоциацию локуса *MMP3* –1171 5А>6А с развитием ХОБЛ ($P_{\text{СМН}} = 0.00067$, $OR_{\text{СМН}} = 0.415$ 95%СІ 0.247–0.699). Тест Бреслоу–Дэя ($P_{\text{BD}} = 0.9606$) и тест на гомогенность отношения шансов в стратифицированных выборках ($P = 0.9455$) показал, что показатели отношения шансов не различаются в выборках русских и татар. Анализ с учетом стратификации выборок по этнической принадлежности выявил ассоциацию с ХОБЛ локуса *MMP3* –1171 5А>6А в выборке целом ($P = 0.001$, $P_{\text{cor}} = 0.009$) и отдельно в группах русских ($P = 0.016$, $P_{\text{cor}} = 0.144$, $OR = 0.418$) и татар ($P = 0.026$, $P_{\text{cor}} = 0.234$, $OR = 0.433$). Дальнейший анализ в этнически гомогенных группах выявил ассоциацию генотипа 6А6А локуса *MMP3* –1171 5А>6А у русских ($P = 0.0019$, $P_{\text{cor}} = 0.017$, $OR = 3.260$) и татар ($P = 0.0405$, $P_{\text{cor}} = 0.364$, $OR = 3.060$). Значимость теста Кохрана–Мантеля–Хензеля ($P_{\text{СМН}}$) для локуса *ADAM33* 12418А>G составила 0.05101, а в дифференцированных выборках генотип АА локуса *ADAM33* 12418А>G был ассоциирован с ХОБЛ только у татар ($P = 0.032$, $P_{\text{cor}} = 0.288$, $OR = 1.610$).

Проведен анализ ассоциации полиморфных локусов с учетом таких факторов, как возраст, индекс курения, пол и этническая принадлежность, вводимых в уравнение регрессии одновременно (табл. 3). Показано, что ассоциация локуса *MMP3* –1171 5А>6А с ХОБЛ сохраняется, но с большим уровнем значимости в аддитивной ($P_{\text{adj}} = 0.00397$, $P_{\text{cor}} = 0.0357$) и доминантной ($P_{\text{adj}} = 0.0047$, $P_{\text{cor}} = 0.0423$) моделях. Ассоциация локуса *ADAM33* 12418А>G с ХОБЛ в доминантной модели ($P_{\text{adj}} = 0.023$, $P_{\text{cor}} = 0.207$) и модели сверхдоминирования ($P_{\text{adj}} = 0.022$, $P_{\text{cor}} = 0.198$) изменяется незначительно. Кроме того, выявлена ассоциация частого генотипа ТТ локуса *TIMP3* –1296Т>С с развитием ХОБЛ ($P_{\text{adj}} = 0.037$, $P_{\text{cor}} = 0.333$, $OR = 1.341$).

Ассоциация полиморфных локусов с ХОБЛ с учетом курения

Регрессионный анализ, проведенный с учетом статуса и индекса курения, показал ассоциацию с ХОБЛ локусов *MMP3* –1171 5А>6А ($P_{\text{adj}} = 0.0008$, $P_{\text{cor}} = 0.0072$ и $P_{\text{adj}} = 0.0072$, $P_{\text{cor}} = 0.0648$, соответственно, в аддитивной модели и генотипа 6А6А) и *ADAM33* 12418А>G ($P_{\text{adj}} = 0.019$, $P_{\text{cor}} = 0.171$ и $P_{\text{adj}} = 0.026$, $P_{\text{cor}} = 0.234$, соответственно, в аддитивной модели и генотипа АА) с развитием ХОБЛ.

Включение в уравнение регрессии индекса курения позволило выявить ассоциацию гетерозиготного генотипа локуса *MMP9* 2660А>G с ХОБЛ ($P_{\text{adj}} = 0.042$, $P_{\text{cor}} = 0.378$, $OR = 0.700$). Определено значимое взаимодействие генетических и средовых факторов (статуса курения) для локусов *ADAM33* 12418А>G ($P_{\text{interact}} = 0.026$) и *TIMP3* –1296Т>С ($P_{\text{interact}} = 0.044$). Значимых ген–средовых взаимодействий этих локусов с индексом курения не выявлено. Взаимодействия генотип–среда анализировали также, сопоставляя величины отношения шансов, рассчитанных для генотипов-кандидатов в группах, сформированных по критерию наличия/отсутствия влияния фактора курения (курящих/некурящих). В группе некурящих локус *MMP3* –1171 5А>6А ассоциирован с ХОБЛ с уровнем значимости ($P = 0.0001$, $P_{\text{cor}} = 0.0009$). Риск развития заболевания связан с частым аллелем 6А ($OR = 4.667$ 95%СІ 1.801–12.798) и гомозиготным генотипом 6А6А ($P = 0.001$, $P_{\text{cor}} = 0.009$, $OR = 5.147$ 95%СІ 1.934–14.459). Анализ ассоциации данного локуса с ХОБЛ среди курящих выявил более высокий уровень значимости для аллеля 6А ($P = 0.01$, $P_{\text{cor}} = 0.09$, $OR = 2.284$ 95%СІ 1.202–4.383) и генотипа 6А6А ($P = 0.008$, $P_{\text{cor}} = 0.072$, $OR = 2.386$ 95%СІ 1.232–4.645). Локус *ADAM33* 12418А>G, ассоциированный с развитием ХОБЛ в общей выборке, связан с развитием заболевания только у некурящих с уровнем значимости в аллельном тесте ($P = 0.005$, $P_{\text{cor}} = 0.045$, $OR = 2.044$). Риск развития ХОБЛ связан с генотипом АА ($P = 0.002$, $P_{\text{cor}} = 0.018$, $OR = 2.638$ 95%СІ 1.439–4.855), гетерозиготный генотип служит маркером устойчивости ($P = 0.0017$, $P_{\text{cor}} = 0.015$, $OR = 0.348$ 95%СІ 0.182–0.666). У некурящих локус *TIMP3* –1296Т>С ассоциирован с ХОБЛ в аллельном тесте ($P = 0.029$, $P_{\text{cor}} = 0.261$, $OR = 1.625$ 95%СІ 1.049–2.518) и в доминантной модели ($P = 0.044$, $P_{\text{cor}} = 0.396$, $OR = 1.767$ 95%СІ 1.015–2.243 для генотипа ТТ).

Ассоциация полиморфных локусов с развитием ХОБЛ с учетом пола

Анализ полиморфных локусов выявил ассоциацию ХОБЛ с локусом *MMP3* –1171 5А>6А в группах как мужчин ($P = 0.001$, $P_{\text{cor}} = 0.0093$), так и женщин ($P = 0.004$, $P_{\text{cor}} = 0.036$). Локус *ADAM33* 12418А>G был связан с развитием ХОБЛ у мужчин ($P = 0.021$, $P_{\text{cor}} = 0.189$). Регрессионный анализ, выполненный с учетом пола в качестве независимой переменной, в целом не изменил уровень значимости для локусов *MMP3* –1171 5А>6А ($P_{\text{adj}} = 0.00071$, $P_{\text{cor}} = 0.0064$) и *ADAM33* 12418А>G ($P_{\text{adj}} = 0.014$, $P_{\text{cor}} = 0.126$).

Таблица 3. Анализ ассоциации полиморфных локусов с развитием ХОБЛ с учетом пола, этнической принадлежности, возраста, индекса курения

Ген, локус	Редкий аллель	N	Модель	P_{adj}^*	OR	L95	U95	AIC**
<i>MMP1</i> –1607G>GG rs1799750	GG	775	Аддитивная	0.1562	1.187	0.936	1.505	785.2
<i>MMP3</i> –1171 5A>6A rs35068180	5A	746	Аддитивная	0.00397	0.386	0.202	0.738	752.6
			Доминантная	0.0047	0.40	0.21	0.77	752.8
<i>MMP12</i> –82A>G rs2276109	G	827	Аддитивная	0.8271	0.955	0.637	1.434	839.4
<i>MMP2</i> –735C>T rs2285053	T	699	Аддитивная	0.7465	0.929	0.596	1.448	711.4
<i>ADAM33</i> 13491C>G rs2787094	C	675	Аддитивная	0.8267	0.969	0.733	1.281	691.3
<i>ADAM33</i> 12418A>G rs2280091	G	680	Аддитивная	0.05557	0.714	0.506	1.008	690.4
			Сверхдоминирование	0.022	0.610	0.400	0.930	689.1
			Доминантная	0.023	0.630	0.420	0.940	689.2
<i>MMP9</i> –1562C>T rs3918242	T	825	Аддитивная	0.5409	0.894	0.625	1.279	836.2
<i>MMP9</i> 2660A>G rs17576	G	671	Аддитивная	0.4971	0.904	0.676	1.209	679.4
<i>TIMP3</i> –1296T>C rs9619311	C	684	Аддитивная	0.03713	0.730	0.544	0.981	704.4
			Сверхдоминирование	0.082	0.720	0.490	1.040	705.3
			Доминантная	0.037	0.680	0.470	0.980	704

* P_{adj} – Значимость для теста отношения правдоподобия регрессионной модели с учетом всех факторов.

** Информационный критерий Акайке для регрессионной модели (AIC).

Ассоциация гаплотипов генов *MMP9*, *ADAM33*, кластера *MMP1*, *MMP3* и *MMP12* на хромосоме 11q22–q23 с развитием ХОБЛ

Группы больных и здоровых индивидов имели сходное распределение частот гаплотипов гена *MMP9*. Статистически значимые различия между группами с ХОБЛ и контрольной группой ($P = 0.0076$, $P_{cor} = 0.038$) получены при анализе частот гаплотипов гена *ADAM33* по локусам 13491C>G и 12418A>G (табл. 4). Величина стандартизованного коэффициента неравновесия по сцеплению (D') между двумя локусами составила 0.32 в контроле и 0.155 у больных ХОБЛ. С развитием ХОБЛ ассоциирован гаплотип G-G по локусам 13491C>G и 12418A>G ($P = 0.0008$, $P_{cor} = 0.004$,

$OR = 0.48$ 95%CI 0.32–0.74). Наиболее информативна модель, включающая, помимо локусов гена *ADAM33*, такие переменные, как возраст, этническая принадлежность и индекс курения ($P_{adj} = 0.0002$, $P_{cor} = 0.001$). В связи с тем, что гены *MMP1*, *MMP3* и *MMP12* находятся в одном кластере на хромосоме 11q22–q23, проведен анализ частот гаплотипов полиморфных локусов этих генов в группах больных и здоровых индивидов (табл. 4). Выявлены различия в распределении частот гаплотипов в группе ХОБЛ и в контрольной группе ($P = 0.03$, $P_{cor} = 0.15$). Гаплотип GG-5A-A по локусам *MMP1*–1607G>GG, *MMP3*–1171 5A>6A, *MMP12*–82A>G является маркером устойчивости ($P = 0.022$, $P_{cor} = 0.11$, $OR = 0.41$ 95%CI 0.19–0.88). Различия между выборками сохранились

Таблица 4. Анализ ассоциации гаплотипов генов *ADAM33*, *MMP1* *MMP3*, *MMP12* с развитием ХОБЛ

Гаплотип	Частота в целом	Частота, больные/контроль	Без учета факторов		С учетом возраста, этнической принадлежности, индекса курения	
<i>ADAM33</i> по локусам 13491C>G и 12418A>G (<i>N</i> = 679)			<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>P</i> _{adj}	<i>OR</i>
G-A	0.534	0.557/0.505	—	1.000	—	1.000
C-A	0.302	0.300/0.304	0.096	0.790	0.022	0.700
G-G	0.106	0.084/0.134	0.0008	0.480	0.0002	0.390
C-G	0.058	0.059/0.057	0.480	1.230	0.430	1.280
Ассоциация гаплотипов в целом, <i>P</i> -value			0.0076	—	0.0012	—
Кластер на хромосоме 11q22–q23 <i>MMP1</i> –1607G>GG, <i>MMP3</i> –1171 5A>6A, <i>MMP12</i> –82A>G (<i>N</i> = 827)			Без учета факторов		С учетом возраста, этнической принадлежности, статуса курения	
			<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>P</i> _{adj}	<i>OR</i>
GG-6A-A	0.481	0.483/0.480	—	1.000	—	1.000
G-6A-A	0.365	0.384/0.351	0.440	1.090	0.300	1.130
GG-A-G	0.072	0.076/0.070	0.920	1.020	0.880	0.960
GG-5A-A	0.033	0.017/0.045	0.022	0.410	0.023	0.400
G-6A-G	0.027	0.029/0.026	0.640	1.220	0.440	1.390
G-5A-A	0.021	0.011/0.029	0.150	0.470	0.230	0.530
Ассоциация гаплотипов в целом, <i>P</i> -value			0.030	—	0.028	—

при учете таких факторов, как возраст, этническая принадлежность и статус курения.

Ассоциация полиморфных локусов с возрастом манифестации, тяжестью заболевания и развитием эмфиземы легких у больных ХОБЛ

Для выявления возможных ассоциаций полиморфных локусов с возрастом манифестации ХОБЛ мы проанализировали две группы больных – с ранней (до 40 лет) и поздней (после 40 лет) манифестацией заболевания. Не выявлено различий между группами с разным возрастом манифестации ХОБЛ по всем локусам генов протеолитической системы и тканевых ингибиторов металлопротеаз. С целью выявления локусов, ассоциированных с тяжестью ХОБЛ, внутри общей выборки больных выделяли две группы – со средней и тяжелой формой ХОБЛ. В табл. 5 представлены результаты анализа ассоциации локуса *MMP9* –1562C>T в различных моделях, по остальным полиморфным локусам различий между группами не выявлено. Показано увеличение доли редкого аллеля T локуса *MMP9* –1562C>T до 13.85% у больных с тяжелой формой ХОБЛ против 7.89% при средней тяжести заболевания (*P* = 0.041, *P*_{cor} = 0.369, *OR* = 1.876). Более информативна аддитивная модель (*P* = 0.023, *P*_{cor} = 0.207, *OR* = 1.883, AIC = 432.5). Включение в уравнение регрессии таких независимых факторов, как этническая принадлежность, пол, индекс курения и воз-

раст манифестации заболевания не влияет на уровень значимости модели (*P*_{adj} = 0.028, *P*_{cor} = 0.252, *OR* = 1.85, AIC = 434.6). Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов изученных локусов не выявил различий между группами больных с эмфиземой легких и без нее по большинству из них. Включение в уравнение регрессии (по очереди и в комбинации) таких независимых переменных, как возраст манифестации ХОБЛ, возраст, статус и индекс курения, пол, этническая принадлежность, позволило установить ассоциацию локуса *ADAM33* 13491C>G с эмфиземой легких. Наиболее информативными были модели, учитывающие возраст, пол и статус курения. Самый низкий уровень значимости (*P*_{adj} = 0.013, *P*_{cor} = 0.117) и наименьшее значение информационного критерия Акайке (AIC = 496.9) получены в доминантной модели. Риск развития эмфиземы легких связан с гомозиготным носительством частого аллеля GG (*OR* = 1.740).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами проведен анализ ассоциации полиморфных локусов генов, кодирующих MMP (*MMP1*, *MMP2*, *MMP3*, *MMP9*, *MMP12*), *ADAM33* и *TIMP2*, *TIMP3*, с развитием ХОБЛ, тяжестью течения, эмфиземой легких и возрастом манифестации заболевания. Проведена оценка взаимодействия генетических и средовых факторов (курения).

Таблица 5. Ассоциация локусов генов-кандидатов с тяжестью ХОБЛ и развитием эмфиземы легких

редкий аллель	частый аллель	Тест/модель	Группы сравнения, абс. (%)		P или P _{adj}	OR	L95	U95	AIC
			тяжелая	средней тяжести					
<i>MMR9</i> –1562C>T (rs3918242) (N = 391)									
T	C	Алель	82/510 (13.85/86.15)	15/175 (7.89/92.11)	0.041	1.876	1.023	3.488	–
		Генотип	6/70/220 (2.03/23.65/74.32)	0/15/80 (0/15.79/84.21)	0.087	–	–	–	433.2
		Сверхдоминирование	70/226	15/80	0.097	1.650	0.890	3.050	434.8
		Доминантная	76/220	15/80	0.065	1.840	1.000	3.390	433.4
		Рецессивная	6/290	0/95	0.066	–	–	–	434.2
		Аддитивная	–	–	0.023	1.880	1.050	3.360	432.5
<i>MMR9</i> –1562C>T (rs3918242) с учетом этнической принадлежности, пола, индекса курения и возраста манифестации заболевания (N = 391)									
T	C	Генотип	6/70/220	0/15/80	0.043	–	–	–	435.2
		Сверхдоминирование	70/226	15/80	0.120	1.610	0.870	2.970	437.1
		Доминантная	76/220	15/80	0.050	1.800	0.980	3.330	435.6
		Рецессивная	6/290	0/95	0.059	–	–	–	–
		Аддитивная	–	–	0.028	1.850	1.040	3.310	434.6
<i>ADAM33</i> 13491C>G (rs2787094) с учетом пола, возраста и статуса курения (N = 391)									
C	G	Генотип	24/89/89 (11.88/44.06/44.06)	23/98/68 (12.17/35.98/51.85)	0.043	–	–	–	498.7
		Сверхдоминирование	89/113	98/91	0.031	0.620	0.410	0.960	498.3
		Доминантная	113/89	121/68	0.013	0.570	0.370	0.890	496.9
		Рецессивная	24/178	23/166	0.690	0.880	0.460	1.680	502.9
		Аддитивная	–	–	0.043	0.720	0.520	0.990	498.9

С наименьшим уровнем значимости выявлена ассоциация с ХОБЛ одного локуса – *MMP3* –1171 5А>6А ($P = 0.0007$, $P_{\text{cor}} = 0.0063$). Статистическая значимость локуса как маркера риска не изменяется при учете этнической принадлежности, пола и статуса курения в дифференцированных по данным признакам выборках, а также при учете всех названных факторов и количественных показателей – возраста и индекса курения в регрессионных моделях. Ген *MMP3* локализован на хромосоме 11q22–q23 в одном кластере с генами *MMP1*, *MMP12*. Нами показано, что гаплотип GG-5А-А по локусам *MMP1* –1607G>GG, *MMP3* –1171 5А>6А, *MMP12* –82А>G маркирует устойчивость к ХОБЛ ($OR = 0.41$). Полученные результаты указывают на важную роль гена *MMP3* и его продукта, стромелизина-1, в развитии ХОБЛ. *MMP3* относится к ключевым ферментам семейства MMP, так как активирует и индуцирует синтез *MMP1* и *MMP9*, взаимодействует с цитокинами, факторами роста, деградирует протеогликаны, ламинины и коллаген типа IV, образующие ВКМ легочной ткани [21]. Ген *MMP3* состоит из 11 интронов и 10 экзонов и обладает структурным сходством с *MMP1* [22]. У мышей с нокаутом гена *MMP3* легкие при воспалении повреждаются меньше, чем у контрольных особей [23]. *MMP3* участвует в формировании фиброза легких [24]. Вариант *MMP3* –1171 5А>6А представляет инсерционно-делеционный полиморфизм (инсерция/делеция А), который изменяет сайт связывания фактора транскрипции NF-κB, что влияет на экспрессию *MMP3* [25]. В опытах *in vitro* и *in vivo* показано, что у носителей аллеля 5А уровень экспрессии *MMP3* в 2–4 раза выше, чем у носителей аллеля 6А [26, 27]. Генотип 6А6А ассоциирован с высокой скоростью снижения показателей функции внешнего дыхания [21], что согласуется с нашими данными, согласно которым риск развития ХОБЛ связан с генотипом 6А6А и аллелем 6А локуса *MMP3* –1171 5А>6А. Однако ассоциация полиморфного локуса *MMP3* –1171 5А>6А с развитием ХОБЛ не обнаружена у европеоидов из Бразилии [28], тогда как риск развития рака легкого повышен у некурящих носителей генотипа 6А6А [29]. Ассоциация с частым генотипом может быть объяснена вероятным сцеплением с другим функциональным локусом гена *MMP3*.

Нами показана статистически значимая ассоциация гаплотипа G-G гена *ADAM33* по локусам 13491С>G и 12418А>G с развитием ХОБЛ. Регрессионный анализ установил статистически значимое взаимодействие локуса *ADAM33* 12418А>G со статусом курения. В отличие от локуса *MMP3* –1171 5А>6А в дифференцированных по полу, статусу курения и этнической принадлежности выборках показана ассоциация локуса *ADAM33* 12418А>G с ХОБЛ в выборке мужчин, а также в этнической группе татар. Однако только у неку-

рящих эта ассоциация была статистически значимой после коррекции на множественность сравнений ($P = 0.002$, $P_{\text{cor}} = 0.018$), что, вероятно, указывает на патогенетические особенности развития ХОБЛ у некурящих. Выявлено увеличение частоты генотипа GG локуса *ADAM33* 13491С>G у больных ХОБЛ с эмфиземой легких ($OR = 1.740$) Ген *ADAM33* расположен на хромосоме 20p13, он состоит из 22 экзонов и экспрессируется преимущественно в легочных фибробластах и гладких мышцах бронхов [30]. *ADAM33* участвует в усилении воспалительного ответа и протеолиза легочной ткани, а также в ангиогенезе [31]. Протеолиз опосредуется способностью ADAM высвобождать мембраносвязанные цитокины, факторы роста или их рецепторы, расщеплять α₂-макроглобулин [8]. Ген *ADAM33* содержит полиморфные локусы, многие из которых функциональные [8, 30]. Полиморфные локусы 12418А>G и 13491С>G расположены, соответственно, в экзонах 20 и 22 гена *ADAM33*, кодирующих цитоплазматический домен [8]. Изменения структуры этих участков могут приводить к образованию альтернативного продукта сплайсинга гена *ADAM33*, а также влиять на процессы внутриклеточной сигнализации [8]. Существование ассоциации между полиморфизмом гена *ADAM33*, ХОБЛ и бронхиальной астмой показано ранее [8, 30, 32, 33] и подтверждается нами для больных ХОБЛ из Республики Башкортостан.

В дифференцированных по статусу курения выборках выявлено увеличение частоты аллеля Т локуса *TIMP3* –1296Т>С у некурящих больных ХОБЛ ($P = 0.029$, $P_{\text{cor}} = 0.261$). Регрессионный анализ, выполненный с учетом пола, этнического происхождения, возраста и индекса курения в качестве независимых факторов, также показал ассоциацию локуса *TIMP3* –1296Т>С с ХОБЛ, но после коррекции на множественность сравнений результаты становятся статистически незначимыми. В то же время нами выявлено взаимодействие локуса *TIMP3* –1296Т>С со статусом курения. *TIMP3* отличается от других членов семейства TIMP широким спектром ингибирования протеолитических ферментов – не только MMP, но и ADAM, в частности *ADAM33* [9]. *TIMP3* регулирует высвобождение TGFβ1 и TNFα в ответ на повреждение ткани или при воспалительном ответе [34]. *TIMP3* локализован на хромосоме 22 (22q12.1–q13.2) внутри протяженного интрона V гена *SYN3* [9]. Полиморфный вариант в промоторной области *TIMP3* –1296Т>С предположительно влияет на транскрипционную активность гена, однако функциональное значение этого локуса еще не изучено [9]. Имеются сведения об участии *TIMP3* в развитии острого повреждения легочной ткани при воспалении [35].

MMP9, желатиназа В, специфически гидролизует денатурированный коллаген и коллаген типа IV. MMP9 продуцируется альвеолярными макрофагами и нейтрофилами, активированными интерлейкинами (IL) 8 и 1 и индукторами IL1 [36]. Экспрессия MMP9 повышена в тканях, где идет процесс ремоделирования и ангиогенеза, а также в ходе прогрессии опухолей [36–38]. Ген MMP9 картирован на хромосоме 20q11.2, содержит 13 экзонов и 12 интронов. Аллель T локуса –1562C>T снижает способность промотора связываться с репрессором транскрипции, повышая таким образом экспрессию MMP9 [16]. Транзиция 2660A>G приводит к аминокислотной замене R279Q в специфическом субстрат-связывающем каталитическом домене MMP9, вызывая изменения структуры и функции MMP9 [38]. Локус гена MMP9 –1562C>T ассоциирован с тяжестью ХОБЛ. Риск развития тяжелой формы ХОБЛ связан с редким аллелем T ($OR = 1.883$) и не изменяется при учете возраста манифестации, пола, этнической принадлежности и индекса курения. Ассоциацию полиморфных вариантов гена MMP9 с заболеваниями дыхательной системы анализировали и ранее [12, 14, 16]. Полученные нами результаты указывают на участие полиморфного варианта MMP9 –1562C>T в прогрессировании ХОБЛ.

Не выявлено ассоциации полиморфных локусов генов MMP1 (–1607G>GG), MMP2 (–735C>T), MMP12 (–82A>G) с развитием ХОБЛ, тяжестью, возрастом манифестации заболевания и наличием эмфиземы легких.

Повышенная активность протеолитических ферментов (MMP, ADAM) приводит к деструкции эндотелиальных и эпителиальных клеток легочной паренхимы, ремоделированию воздухоносных путей и разрушению альвеолярных структур. Все эти процессы являются важными компонентами патогенеза заболеваний органов дыхания. Кроме того, протеолитические ферменты рассматриваются в качестве основных регуляторов воспалительного и иммунного ответа, что связано не только с деградацией белков ВКМ и высвобождением связанных с ВКМ интерлейкинов, но и с расщеплением молекул цитокинов и хемокинов, что ведет к изменению биологической активности медиаторов воспаления [39]. Нами установлено, что полиморфные локусы генов MMP3, MMP9, ADAM33, TIMP3 – важные маркеры риска развития и прогрессирования ХОБЛ, формирования эмфиземы легких у больных ХОБЛ. Выявлены патогенетически значимые взаимодействия генетических и средовых факторов (курения) с генами ADAM33 и TIMP3. Полученные результаты вносят вклад в понимание структуры наследственной предрасположенности к развитию ХОБЛ.

Работа получила частичную финансовую поддержку Российского фонда фундаментальных исследований (08-04-97007-р_поволжье_a).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б. 2009. Генетический взгляд на феномен сочетанных заболеваний человека. *Acta Naturae*. **3**, 57–63.
2. Шмелев Е.И. 2009. Хроническая обструктивная болезнь легких. В: *Пульмонология: национальное руководство*. Под ред. Чучалина А.Г. М.: ГЭОТАР-Медиа, 303–360.
3. www.goldcopd.com. *GOLD Workshop Report: Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease*. Updated 2010.
4. Bhupinder S. 2010. Matrix metalloproteinases – an overview. *Res. Rep. Biol.* **1**, 1–20.
5. Holgate S.T. 2010. ADAM metalloproteinase domain 33 (ADAM33): identification and role in airways disease. *Drug News Perspect.* **23**(6), 381–387.
6. Greenlee K.J., Werb Z., Kheradmand F. 2007. Matrix metalloproteinases in lung: multiple, multifarious, and multifaceted. *Physiol. Rev.* **87**(1), 69–98.
7. Parks W.C., Wilson C.L., Lopez-Boado Y.S. 2004. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **4**, 617–629.
8. Wang X., Li L., Xiao J., Jin C., Huang K., Kang X., Wu X., Lv F. 2009. Association of ADAM33 gene polymorphisms with COPD in a northeastern Chinese population. *BMC Med. Genet.* **10**, 132–139.
9. Brew K., Nagase H. 2010. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim. Biophys. Acta.* **1803**(1), 55–71.
10. Noll W., Belloni D., Rutter J., Storm C., Schned A., Titus-Ernstoff L., Ernstoff M., Brinckerhoff C. 2001. Loss of heterozygosity on chromosome 11q22-23 in melanoma is associated with retention of the insertion polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter. *Am. J. Pathol.* **158**(2), 691–677.
11. Armstrong C., Abilleira S., Sitzer M., Markus H.S., Bevan S. 2007. Polymorphisms in MMP family and TIMP genes and carotid artery intima-media thickness. *Stroke.* **38**(11), 2895–2899.
12. Joos L., He J.Q., Shepherdson M.B., Connett J.E., Anthonisen N.R., Pare P.D., Sandford A.J. 2002. The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in the rate of decline in lung function. *Hum. Mol. Genet.* **11**, 569–576.
13. Gnasso A., Motti C., Irace C., Carallo C., Liberatoscioli L., Bernardini S., Massoud R., Mattioli P.L., Federici G., Cortese C. 2000. Genetic variation in human stromelysin gene promoter and common carotid geometry in healthy male subjects. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **20**(6), 1600–1605.
14. Ganter K., Deichmann K.A., Heinzmann A. 2005. Association study of polymorphisms within matrix metalloproteinase 9 with bronchial asthma. *Int. J. Immunogenet.* **32**(4), 233–236.

15. Su D., Zhang X., Sui H., Lü F., Jin L., Zhang J. 2008. Association of *ADAM33* gene polymorphisms with adult allergic asthma and rhinitis in a Chinese Han population. *BMC Med. Genet.* **9**, 82.
16. Zhou M., Huang Sh., Wan H.-Y., Li B., Drng W., Li M. 2004. Genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-9 and the susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Han population of South China. *Chin. Med. J.* **117**(10), 1481–1484.C
17. BIOSTATISTICA, Primer of biostatistics version 4.03 by Stanton A. Glanz, McGraw Hill (1998), перевод на русский язык программа BIOSTAT (для IBM PC). Практика (1998).
18. PLINK v. 1.0 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/contact.shtml#cite>).
19. SNPStats (http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats_web).
20. Haploview 4.2. (<http://www.broadinstitute.org/scientific-community/science/programs/medical-and-population-genetics/haploview/haploview>).
21. Santus P., Casanova F., Biondi M.L., Blasi F., Di Marco F., Centanni S. 2009. Stromelysin-1 polymorphism as a new potential risk factor in progression of chronic obstructive pulmonary disease. *Monaldi. Arch. Chest. Dis.* **71**(1), 15–20.
22. McAloon C.J., Wood A.M., Gough S.C., Stockley R.A. 2009. Matrix metalloproteinase polymorphisms are associated with gas transfer in alpha 1 antitrypsin deficiency. *Ther. Adv. Respir. Dis.* **3**(1), 23–30.
23. Nerusu K.C., Warner R.L., Bhagavathula N., McClintock S.D., Johnson K.J., Varani J. 2007. Matrix metalloproteinase-3 (stromelysin-1) in acute inflammatory tissue injury. *Exp. Mol. Pathol.* **83**(2), 169–176.
24. Yamashita C.M., Dolgonos L., Zemans R.L., Young S.K., Robertson J., Briones N., Suzuki T., Campbell M.N., Gauldie J., Radisky D.C., Riches D.W., Yu G., Kaminski N., McCulloch C.A., Downey G.P. 2011. Matrix metalloproteinase 3 is a mediator of pulmonary fibrosis. *Am. J. Pathol.* Aug 23 (Epub ahead of print).
25. Juran B.D., Atkinson E.J., Schlicht E.M., Larson J.J., Ellinghaus D., Franke A., Lazaridis K.N. 2011. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinase 3 in primary sclerosing cholangitis. *Liver Int.* **31**(6), 785–791.
26. Zhu C., Odeberg J., Hamsten A., Eriksson P. 2006. Allele-specific MMP-3 transcription under *in vivo* conditions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **348**, 1150–1156.
27. Souslova V., Townsend P.A., Mann J., van der Loos C.M., Motterle A., D'Acquisto F., Mann D.A., Ye S. 2010. Allele-specific regulation of matrix metalloproteinase-3 gene by transcription factor NFkappaB. *PLoS One.* **5**(3), e9902.
28. Schirmer H., Basso da Silva L., Teixeira P.J., Moreira J.S., Moreira A.L., Simon D. 2009. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms: lack of association with chronic obstructive pulmonary disease in a Brazilian population. *Genet. Mol. Res.* **8**(3), 1028–1034.
29. Su L., Zhou W., Asomaning K., Lin X., Wain J.C., Lynch T.J., Liu G., Christiani D.C. 2006. Genotypes and haplotypes of matrix metalloproteinase 1, 3 and 12 genes and the risk of lung cancer. *Carcinogenesis.* **27**(5), 1024–1029.
30. van Eerdewegh P., Little R.D., Dupuis J., Del Mastro R.G., Falls K., Simon J., Torrey D., Pandit S., McKenny J., Braunschweiger K., Walsh A., Liu Z., Hayward B., Folz C., Manning S.P., Bawa A., Saracino L., Thackston M., Benchekroun Y., Capparell N., Wang M., Adair R., Feng Y., Dubois J., FitzGerald M.G., Huang H., Gibson R., Allen K.M., Pedan A., Danzig M.R., Umland S.P., Egan R.W., Cuss F.M., Rorke S., Clough J.B., Holloway J.W., Holgate S.T., Keith T.P. 2002. Association of the *ADAM33* gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature.* **418**, 426–430.
31. Puxeddu I., Pang Y.Y., Harvey A., Haitchi H.M., Nicholas B., Yoshisue H., Ribatti D., Clough G., Powell R.M., Murphy G., Hanley N.A., Wilson D.I., Howarth P.H., Holgate S.T., Davies D.E. 2008. The soluble form of a disintegrin and metalloprotease 33 promotes angiogenesis: implications for airway remodeling in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **121**(6), 1400–1406.
32. Gosman M.M., Boezen H.M., van Diemen C.C., Snoeck-Stroband J.B., Lapperre T.S., Hiemstra P.S., Ten Hacken N.H., Stolk J., Postma D.S. 2007. A disintegrin and metalloprotease 33 and chronic obstructive pulmonary disease pathophysiology. *Thorax.* **62**(3), 242–247.
33. Pabst S., Pizarro Touron C., Gillissen A., Lennarz M., Tuleta I., Nickenig G., Skowasch D., Grohé C. 2009. *ADAM33* gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. J. Med. Res.* **14**(4), 182–186.
34. Kassiri Z., Defamie V., Hariri M., Oudit G.Y., Anthwal S., Dawood F., Liu P., Khokha R. 2009. Simultaneous transforming growth factor beta-tumor necrosis factor activation and cross-talk cause aberrant remodeling response and myocardial fibrosis in *Timp3*-deficient heart. *J. Biol. Chem.* **284**(43), 29893–29904.
35. Gill S.E., Huizar I., Bench E.M., Sussman S.W., Wang Y., Khokha R., Parks W.C. 2010. Tissue inhibitor of metalloproteinases 3 regulates resolution of inflammation following acute lung injury. *Am. J. Pathol.* **176**(1), 64–67.
36. Segura-Valdez L., Pardo A., Gaxiola M., Uhal B.D., Becerril C., Selman M. 2000. Upregulation of gelatinases A and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD. *Chest.* **117**, 684–694
37. Atkinson J.J., Senior R.M. 2003. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* **28**(1), 12–24.
38. O'Farrell T.J., Pourmotabbed T. 2000. Identification of structural elements important for matrix metalloproteinase type V collagenolytic activity as revealed by chimeric enzymes. Role of fibronectin-like domain and active site of gelatinase B. *J. Biol. Chem.* **275**(36), 27964–27972.
39. Lagente V., Boichot E. 2010. Role of matrix metalloproteinases in the inflammatory process of respiratory diseases. *J. Mol. Cell Cardiol.* **48**(3), 440–444.