

# Клинико-диагностическое значение исследования полиморфизма гена NAT2 при хронической обструктивной болезни легких

Д.м.н. И.А. Кудряшева<sup>1</sup>, к.м.н. Н.Е. Новикова<sup>2</sup>, к.м.н. Е.А. Полунина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России

<sup>2</sup> ЧУЗ «МСЧ», Астрахань

## РЕЗЮМЕ

**Цель исследования:** изучить взаимосвязь частоты аллелей и генотипов гена NAT2 с характером течения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), частотой рецидивов и обострения заболевания.

**Материал и методы:** всего было обследовано 120 человек, из них 90 — с ХОБЛ и 30 — соматически здоровых (группа контроля). Произведен анализ частот генотипов и аллелей гена NAT2 в зависимости от стадии заболевания, частоты и продолжительности обострения и формы ХОБЛ. Определение полиморфизма гена NAT2 выполнялось в лаборатории пренатальной диагностики наследственных болезней Института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта (Санкт-Петербург).

**Результаты и обсуждение:** выявлено, что у обследуемых пациентов с ХОБЛ чаще всего встречался генотип S/S, реже — генотип F/F, при этом различия между пациентами с ХОБЛ и соматически здоровыми лицами по частоте генотипов (S/S, S/F, F/F) и аллелей (S, F) были статистически незначимы. Выявлены статистически значимые различия при сравнении частот генотипов и аллелей гена NAT2 между пациентами с различной степенью тяжести ХОБЛ и соматически здоровыми лицами. Обнаружено статистически значимое увеличение носителей генотипов S/F, F/F и аллеля S среди пациентов с бронхитической формой ХОБЛ по сравнению с эмфизематозной формой.

**Выводы:** распределение генотипов и аллелей гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ зависит от тяжести заболевания; в результате анализа сочетанных генотипов выявлена ассоциация некоторых полиморфизмов гена NAT2 с развитием и прогрессированием ХОБЛ; частота полиморфных аллелей гена NAT2 и частота рецидивов и характер обострения ХОБЛ взаимосвязаны; носителей генотипов S/F, F/F и аллеля S среди пациентов с бронхитической формой ХОБЛ больше, чем среди пациентов с эмфизематозной формой ХОБЛ.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких, ген NAT2, генотипы (S/S, S/F, F/F), аллели (S, F).

**Для цитирования:** Кудряшева И.А., Новикова Н.Е., Полунина Е.А. Клинико-диагностическое значение исследования полиморфизма гена NAT2 при хронической обструктивной болезни легких // РМЖ. 2018. № 10 (I). С. 11–14.

## ABSTRACT

**Clinical and diagnostic value of the study of NAT2 gene polymorphism in chronic obstructive pulmonary disease**

I.A. Kudryashova<sup>1</sup>, N.E. Novikova<sup>2</sup>, E.A. Polunina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Astrakhan State Medical University

<sup>2</sup> Private Clinic "MSCh", Astrakhan

**Aim:** To study the contribution of NAT2 gene alleles and genotypes frequency to the character of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and the frequency of relapse and exacerbation of the disease.

**Patients and Methods:** the total of 120 people were examined, including 90 patients with COPD and 30 somatically healthy individuals as a control group. We analyzed the frequencies of genotypes and alleles of the NAT2 gene, depending on the stage of the disease, the frequency and duration of exacerbations and forms of COPD.

**Results and Discussion:** It was found that the most common genotype among the subjects was S/S genotype, F/F genotype was the least common among patients with COPD, with the differences between patients with COPD and somatically healthy individuals in the frequency of genotypes (S/S, S/F, F/F) and alleles (S, F) being statistically insignificant. Statistically significant differences were found in the comparison of the NAT2 gene and allele frequencies between patients with different degrees of COPD severity and somatically healthy subjects. A statistically significant increase in carriers of the S/F, F/F and S allele genotypes was found in patients with COPD with bronchitis compared to emphysema.

**Conclusions:** distribution of the NAT2 gene genotypes and alleles in patients with COPD depends on severity of the disease; the analysis of the combined genotypes made it possible to identify the association of some polymorphisms of the NAT2 genes with the development and progression of COPD; the relationship between the frequency of polymorphic alleles of the NAT2 gene with the frequency of relapses and the nature of COPD exacerbation; an increase in the carriers of the S/F, F/F and S allele genes among patients COPD with bronchitis compared with emphysema.

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, NAT2 gene, genotypes (S/S, S/F, F/F), alleles (S, F), bronchitis, emphysema.

**For citation:** Kudryashova I.A., Novikova N.E., Polunina E.A. Clinical and diagnostic value of the study of NAT2 gene polymorphism in chronic obstructive pulmonary disease // RMJ. 2018. № 10 (I). P. 11–14.

## ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является классическим примером многофакторного заболевания. В развитии ХОБЛ важное значение имеют как внешние средовые факторы (курение, профессиональные и бытовые поллютанты), так и генетические факторы [1–3]. При этом ведущим фактором риска формирования ХОБЛ считается курение, однако доказано, что заболевание развивается только у 15–20% курильщиков.

Многочисленные генетико-эпидемиологические исследования установили важную роль наследственности в детерминации показателей функции внешнего дыхания и накоплении случаев ХОБЛ в семьях [4], а также перспективность изучения генетических маркеров с точки зрения их вклада в развитие и прогрессирование ХОБЛ [5–7]. Установлено, что к основным генетическим факторам, лежащим в основе развития и прогрессирования ХОБЛ, относятся: различные гены детоксикации, гены, ответственные за иммунный статус, и гены межклеточных взаимодействий. Ряд авторов отмечают особую значимость для изучения системы генов ксенобиотиков (генов «внешней среды») в связи с прогрессирующим ухудшением экологической и токсикологической обстановки и увеличивающимся на фоне этого ростом заболевания ХОБЛ. Одним из значимых является ген N-ацетил-трансферазы 2 (NAT2), который кодирует аминокислотную последовательность цитозольного фермента N-ацетил-трансферазы II типа, участвующего во второй фазе метаболизма ксенобиотиков — в их детоксикации посредством ацетилирования. Информация о роли гена NAT2 в патогенезе ХОБЛ в настоящее время находится на стадии накопления [8–10].

**Цель исследования:** изучить взаимосвязь частоты аллелей и генотипов гена NAT2 с характером течения, частотой рецидивов и обострений ХОБЛ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Всего было обследовано 120 человек, из них 90 — с ХОБЛ и 30 — соматически здоровых лиц в качестве группы контроля. Диагноз ХОБЛ с указанием стадии заболевания выставлялся по рекомендациям «Глобальной стратегии диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких» (GOLD, пересмотр 2014 г.). Характеристика пациентов с ХОБЛ представлена в таблице 1.

Некурящие женщины отмечали наличие такого фактора, как пассивное курение в течение многих лет. Из всех пациентов с ХОБЛ 5 человек отметили в анамнезе длительное воздействие производственных поллютантов (цементная и строительная пыль, газозлектросварочный аэрозоль, стекловолокно). Все пациенты с ХОБЛ получали лечение по стандартным схемам, предусмотренным стандартом GOLD пересмотра 2014 г. Контрольная группа по гендерному составу и возрасту была сопоставима с группой обследуемых пациентов с ХОБЛ.

Определение аллельного полиморфизма гена NAT2 выполнялось в лаборатории пренатальной диагностики наследственных болезней Института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта (Санкт-Петербург). Полиморфизм гена NAT2 был представлен в виде:

- одного «быстрого» F (немутантного) аллеля;
- трех «медленных аллелей»: S1(C481T), S2(G590A) и S3(G857A).

Таблица 1. Характеристика пациентов с ХОБЛ

Показатель	Число пациентов
Пол:	
мужской, n (%)	64 (71,1)
женский, n (%)	26 (28,9)
Средний возраст пациентов, лет	<b>62,9±1,1</b>
мужчин	62,7±1,3
женщин	60,2±2,2
Средняя длительность заболевания, лет	<b>17,5±0,9</b>
у мужчин	18,8±1,1
у женщин	14,3±1,5
Стадия ХОБЛ, n (ОФВ <sub>1</sub> )	
II	25 (50–80%)
III	37 (30–50%)
IV	28 (<30% в сочетании с хронической дыхательной недостаточностью или правожелудочковой хронической сердечной недостаточностью)
Дыхательная недостаточность при SaO <sub>2</sub> ниже 95%, n (%):	
I степени	65 (72,2)
II степени	25 (27,8)
Курение, n (%)	79 (87,8)
Средний индекс курения, пачка-лет	<b>32,6±2</b>
у мужчин	37,6±2
у женщин	12,2±2,1
Средний индекс массы тела	25,2±0,4 кг/м <sup>2</sup>
Критерии исключения	Острые воспалительные заболевания и хронические воспалительные заболевания в стадии обострения, онкопатология

**Примечание.** ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду маневра, SaO<sub>2</sub> – насыщение гемоглобина кислородом в артериальной крови.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программы Statistica 12.0, Stat Soft, Inc. (США).

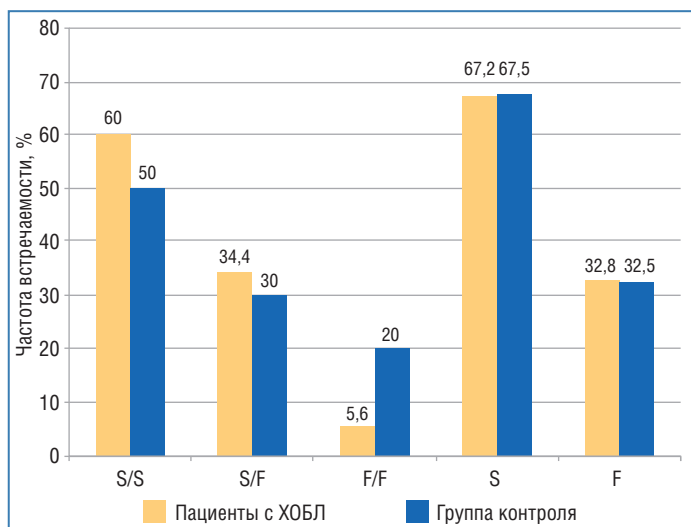
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования была определена частота встречаемости генотипов и аллелей гена NAT2 у всех обследуемых лиц. Различия между пациентами с ХОБЛ и соматически здоровыми лицами по частоте генотипов (S/S, S/F, F/F) и аллелей (S, F) были статистически незначимы. Чаще всего среди обследуемых лиц встречался генотип S/S, реже — генотип F/F (рис. 1).

Далее мы проанализировали частоту встречаемости генотипов и аллелей гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ и соматически здоровых лиц в зависимости от степени тяжести заболевания первых.

Чаще всего как среди пациентов с ХОБЛ, так и среди соматически здоровых лиц встречалось носительство аллеля S (рис. 2).

Различия по частоте распределения аллелей гена NAT2 между пациентами с ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания и соматически здоровыми лицами были статистически значимы (p<0,05). У пациентов с ХОБЛ II стадии преобладал генотип S/F, носительство генотипа S/S встречалось редко, а генотип F/F не встретился ни у одного пациента (рис. 3).



**Рис. 1.** Частота встречаемости генотипов и аллелей гена NAT2 у всех обследуемых двух групп

Наибольшее количество носителей генотипа S/F было среди пациентов с ХОБЛ II стадии. Различия по частоте распределения генотипов гена NAT2 между пациентами с ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания и соматически здоровыми лицами были статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

Следующий этап исследования был посвящен выявлению распределения генотипов и аллелей гена NAT2 в зависимости от формы заболевания и частоты обострения. Было выявлено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение носителей генотипов S/F, F/F и аллеля S среди больных ХОБЛ с бронхитической формой заболевания в отличие от пациентов с эмфизематозной формой. Показатель отношения шансов, определяющий риск развития бронхитической формы ХОБЛ, составил:

- у носителей генотипа S/F: 8,65, 95% доверительный интервал (ДИ) 1,14–67,71 ( $\chi^2=4,06$ ,  $df=1$ ,  $p=0,041$ );
- у носителей генотипа F/F: 8,09, 95% ДИ 1,11–59,65 ( $\chi^2=4,19$ ,  $df=1$ ,  $p=0,038$ ).

Распределение частот генотипов и аллелей гена NAT2 у больных ХОБЛ с разной частотой обострения заболевания представлено в таблице 2.

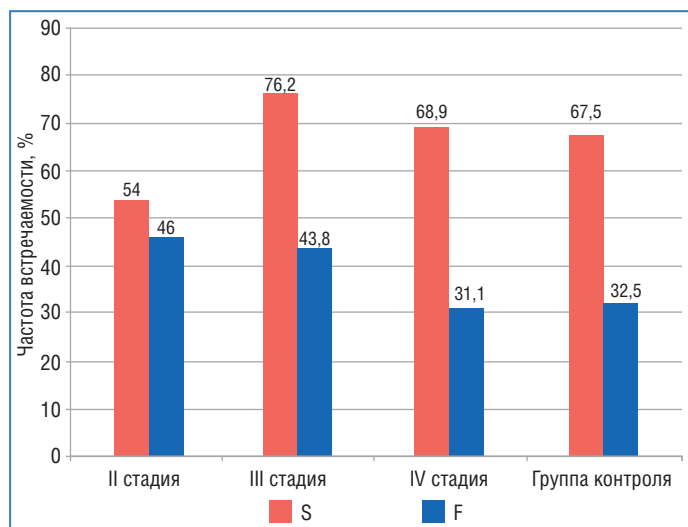
Не выявлено статистически значимых различий в распределении генотипов и аллелей у больных ХОБЛ с различной частотой обострения заболевания ( $p=0,138$ ,  $\chi^2=6,75$ ,  $df=4$ ). Отмечена лишь тенденция к увеличению носителей генотипов S/S и выявлению аллеля S среди пациентов с ХОБЛ при частоте обострения 3 раза в год и больше. Статистически значимые различия выявлены при сравнении частот генотипов и аллелей гена ( $p < 0,05$ ).

И на последнем этапе исследования была проанализирована частота генотипов и аллелей гена NAT2 в зависимости от продолжительности обострения заболевания. Для этого пациенты с ХОБЛ были разделены на 2 группы:

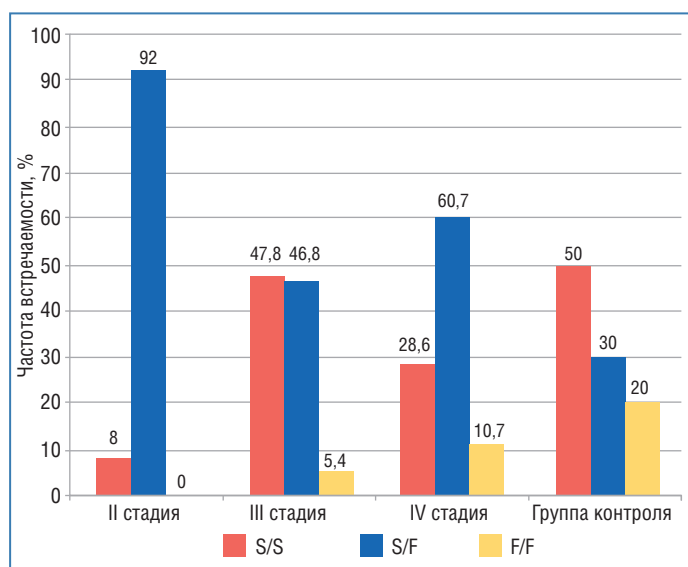
- 1-я группа: 25 пациентов с продолжительностью обострения ХОБЛ 7–10 дней;
- 2-я группа: 23 пациента с продолжительностью обострения 15 дней и более.

По результатам сравнительного анализа статистически значимых различий по частоте генотипов и аллелей по гену NAT2 между пациентами с ХОБЛ в зависимости от продолжительности обострений не обнаружено (рис. 4).

Результаты проведенного анализа распределения частоты генотипов и аллелей гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ



**Рис. 2.** Частота встречаемости аллелей S и F гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания



**Рис. 3.** Частота встречаемости генотипов S/S, S/F и F/F гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания

**Таблица 2.** Распределение частот генотипов и аллелей гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ с разной частотой обострения заболевания

Генотип или аллель	Частота обострений, абс./%			Статистическая значимость
	1 раз в год и реже (n=22)	2 раза в год (n=36)	3 раза в год и больше (n=32)	
S/S	20/90,9	21/58,3	26/81,25	$p_{1,2}=0,052$ , $\chi^2=3,79$ , $df=1$ $p_{1,3}=0,352$ , $\chi^2=0,86$ , $df=1$ $p_{2,3}=0,362$ , $\chi^2=0,83$ , $df=1$
S/F	2/9,1	14/39	4/12,5	
F/F	—	1/2,7	2/6,25	
S	39/93,2	51/77,8	51/72,7	$p_{1,2}=0,055$ , $\chi^2=3,67$ , $df=1$ $p_{1,3}=0,199$ , $\chi^2=1,65$ , $df=1$ $p_{2,3}=0,604$ , $\chi^2=0,27$ , $df=1$
F	6/6,8	18/22,2	12/16,1	

**Примечание.**  $p_{1,2}$  — статистическая достоверность различия между соответствующими показателями пациентов 1-й и 2-й групп;  $p_{1,3}$  — статистическая достоверность различия между соответствующими показателями пациентов 1-й и 3-й групп,  $p_{2,3}$  — статистическая достоверность различия между соответствующими показателями пациентов 2-й и 3-й групп,  $n$  — количество обследованных пациентов.

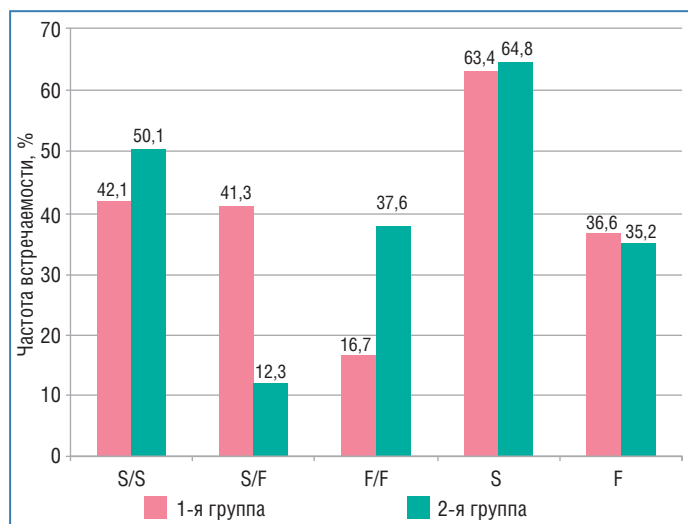
свидетельствуют об ассоциации носительства определенных генотипов аллелей гена NAT2 с развитием, прогрессированием, продолжительностью обострения и тяжестью заболевания и определяют риск формирования тяжелой степени тяжести и бронхитической формы заболевания.

## Выводы

1. Распределение генотипов и аллелей гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ зависит от тяжести заболевания.
2. Выявлена ассоциация некоторых полиморфизмов гена NAT2 с развитием и прогрессированием ХОБЛ.
3. Частота полиморфных аллелей гена NAT2 и частота рецидивов и характер обострения ХОБЛ взаимосвязаны.
4. Носителей генотипов S/F, F/F и аллеля S среди пациентов с бронхитической формой ХОБЛ больше, чем среди пациентов с эмфизематозной формой ХОБЛ, к похожему выводу пришли М.К. Kukkonen et al. в 2011 г.
5. Увеличение количества функционально неполноценных ферментов может влиять на процессы метаболизма эндогенных и экзогенных субстратов и, как следствие, способствовать развитию патологического процесса в бронхолегочной системе.

## Литература

1. Стародумов Н.И., Прохоренко И.О. Изменение эндотелия у пациентов с ХОБЛ под воздействием факторов внешней и внутренней среды // Морфологические ведомости. 2011. № 2. С. 115–119 [Starodumov N.I., Prokhorenko I.O. *Izmenenie endoteliya u patsientov s kHOBL pod vozdeystviem faktorov vneshney i vnutrenney sredy* // *Morfologicheskie vedomosti*. 2011. № 2. S. 115–119 (in Russian)].
2. Якушева Э.В., Уклия Т.А., Полунина О.С. и др. Состояние микрокровоотока у больных хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от возраста и тяжести заболевания // Астраханский медицинский журнал. 2011. Т. 6. № 1. С. 132–134 [Yakusheva E.V., Ukliya T.A., Polunina O.S. i dr. *Sostoyanie mikrokrovotoka u bol'nykh khronicheskoy obstruktivnoy boleznyu legkikh v zavisimosti ot vozrasta i tyazhesti zabolevaniya* // *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011. T. 6. № 1. S. 132–134 (in Russian)].
3. Полунина О.С., Ахминеева А.Х., Воронина Л.П., Севостьянова И.В. Генетические и биохимические параллели при сочетании хронической обструктивной болезни легких и ишемической болезни сердца // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2013. Т. 120. № 5. С. 54–56 [Polunina O.S., Akhmineeva A.Kh., Voronina L.P., Sevost'yanova I.V. *Geneticheskie i biokhimicheskie paralleli pri sochetanii khronicheskoy obstruktivnoy bolezni legkikh i ishemicheskoy bolezni serdtsa* // *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2013. T. 120. № 5. S. 54–56 (in Russian)].
4. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2014 г.). Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. М.: Российское респираторное общество. 2014. 92 с. [Global'naya strategiya diagnostiki, lecheniya i profilaktiki khronicheskoy obstruktivnoy bolezni legkikh (peresmotr 2014 g.). Per. s angl. pod red. A.S. Belevskogo. M.: Rossiyskoye respiratornoye obshchestvo. 2014. 92 s. (in Russian)].



**Рис. 4.** Частота встречаемости аллелей S и F и генотипов S/S, S/F и F/F гена NAT2 у пациентов с ХОБЛ в зависимости от продолжительности обострений

5. Pérez-Rubio G., Silva-Zolezzi I., Fernández-López J.C. et al. Genetic Variants in IL6R and ADAM19 are Associated with COPD Severity in a Mexican Mestizo Population. *COPD*. 2016. Vol. 13(5). P. 605–610. DOI: 10.3109/15412555.2016.1161017.
6. Melro H., Gomes J., Moura G., Marques A. Genetic profile and patient-reported outcomes in chronic obstructive pulmonary disease: A systematic review // *PLoS One*. 2018. Vol. 13(6). e0198920. DOI: 10.1371/journal.pone.0198920.
7. Li Y., Cho M.H., Zhou X. What do polymorphisms tell us about the mechanisms of COPD? // *Clinical Science (London)*. 2017. Vol. 131(24). P. 2847–2863. DOI: 10.1042/CS20160718.
8. Степанова Н.А., Галимзянов Х.М., Кантемирова Б.И. Полиморфизм гена N-ацетилтрансферазы (NAT-2) у пациентов с туберкулезом органов дыхания // Медицинский альманах. 2016. № 3 (43). С. 118–120 [Stepanova N.A., Galimzyanov Kh.M., Kantemirova B.I. *Polimorfizm gena N-atsetiltransferazy (NAT-2) u patsientov s tuberkulezom organov dykhaniya* // *Meditsinskiy al'manakh*. 2016. № 3 (43). S. 118–120 (in Russian)].
9. Каркищенко Н.Н., Петрова Н.В., Слободенюк В.В. Высокоспецифичные видовые праймеры к генам NAT1 и NAT2 для сравнительных исследований у человека и лабораторных животных // Биомедицина. 2014. № 2. С. 4–17 [Karkishchenko N.N., Petrova N.V., Slobodenyuk V.V. *Vysokospetsifichnye vidovye praimery k genam NAT1 i NAT2 dlya sravnitel'nykh issledovaniy u cheloveka i laboratornykh zivotnykh* // *Biomeditsina*. 2014. № 2. S. 4–17 (in Russian)].
10. Новикова Н.Е., Кудряшева И.А. Клинико-диагностическое значение исследования перекисного окисления липидов, белков и антиоксидантной защиты при хронической обструктивной болезни легких с различным генотипом гена NAT2 // Кубанский научный медицинский вестник. 2013. № 1 (136). С. 133–135 [Novikova N.E., Kudryasheva I.A. *Kliniko-diagnosticheskoye znachenie issledovaniya perekisnogo okisleniya lipidov, belkov i antioksidantnoy zashchity pri khronicheskoy obstruktivnoy bolezni legkikh s razlichnym genotipom gena NAT2* // *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik*. 2013. № 1 (136). S. 133–135 (in Russian)].
11. Kukkonen M.K., Härmäläinen S., Kaleva S. et al. Genetic polymorphisms of xenobiotic-metabolizing enzymes influence the risk of pulmonary emphysema // *Pharmacogenet Genomics*. 2011. Vol. 21 (12). P. 876–883. DOI: 10.1097/FPC.0b013e32834d597f.