

Г.Ф. Корытина, В.А. Маркелов, Л.З. Ахмадишина,
Ю.Г. Азнабаева, О.В. Кочетова, А.П. Ларкина,
Н.Н. Хуснутдинова, С.М. Измайлова, Н.Ш. Загидуллин,
Т. В. Викторова

ГЕНЫ НАД-ЗАВИСИМЫХ ДЕАЦЕТИЛАЗ СЕМЕЙСТВА СИРТУИНОВ И РИСК РАЗВИТИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПОВ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

DOI 10.25789/YMJ.2023.83.03

УДК 575:599.9

Проведен анализ вклада генов сиртуинов (*SIRT2*, *SIRT1*, *SIRT3*, *SIRT6*) в риск развития различных фенотипов ХОБЛ. В результате проведенного исследования нами выявлены значимые ассоциации полиморфных вариантов генов *SIRT1* (rs3818292), *SIRT3* (rs536715) и *SIRT6* (rs107251) с развитием обоих фенотипов ХОБЛ. Специфическим маркером развития фенотипа ХОБЛ с частыми обострениями является локус rs3782116 гена *SIRT3*. Полученные данные подтверждают гипотезу о существенной роли НАД-зависимых протеин-деацетилаз из семейства сиртуинов и механизмов клеточного старения в формировании наследственной предрасположенности к развитию ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, сиртуины, окислительный стресс.

The contribution of sirtuin genes (*SIRT2*, *SIRT1*, *SIRT3*, *SIRT6*) to the risk of developing various COPD phenotypes was analyzed. As a result of the study, we have identified significant associations of polymorphic variants of genes *SIRT1* (rs3818292), *SIRT3* (rs536715) and *SIRT6* (rs107251) with the development of both COPD phenotypes. The rs3782116 locus of the *SIRT3* gene is a specific marker for the development of the COPD phenotype with frequent exacerbations. The obtained results indicate the contribution of NAD-dependent deacetylase genes of sirtuin family and cellular senescence mechanisms to COPD development.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease; sirtuins; oxidative stress

КОРЫТИНА Гульназ Фаритовна – д.б.н., доцент, гл.н.с. ИБГ УФИЦ РАН, проф. Башкирского ГМУ Минздрава России, Уфа, guly_kory@mail.ru, ORCID 0000-0002-1695-5173; **МАРКЕЛОВ Виталий Андреевич** – очный аспирант ИБГ УФИЦ РАН, м.н.с. Ин-та фундам. медицины Башкирского ГМУ Минздрава России, ORCID 0000-0002-0663-7219, marckelow.vitalick2017@yandex.ru; **АХМАДИШИНА Лейсан Зинуровна** – к.б.н., н.с. ИБГ УФИЦ РАН, ORCID 0000-0003-0043-5090, l.akhmadishina@gmail.org; **АЗНАБАЕВА Юлия Геннадиевна** – к.м.н., доцент, завуч кафедры Башкирского ГМУ Минздрава России, ORCID 0000-0002-1518-774X, 3251251@gmail.com; **КОЧЕТОВА Ольга Владимировна** – к.б.н., с.н.с. ИБГ УФИЦ РАН, ORCID 0000-0002-2944-4428, olga_mk78@mail.ru; **ЛАРКИНА Анастасия Павловна** – м.н.с. ИБГ УФИЦ РАН, ORCID 0009-0003-0710-6705, larina030300@gmail.com; **ХУСНУТДИНОВА Наталья Николаевна** – к.б.н., н.с. ИБГ УФИЦ РАН, ORCID 0000-0003-4127-078X, natalia.smirnova17@mail.ru; **ИЗМАЙЛОВА Светлана Михайловна** – к.б.н., доцент Башкирского ГМУ Минздрава России, izmailovas73@mail.ru ORCID 0009-0004-0130-9410; **ЗАГИДУЛЛИН Науфаль Шамилевич** – д.м.н., проф., зав. кафедрой Башкирского ГМУ Минздрава России, ORCID 0000-0003-2386-6707, znaufal@mail.ru; **ВИКТОРОВА Татьяна Викторовна** – д.м.н., проф., зав. кафедрой Башкирского ГМУ Минздрава России, ORCID 0000-0001-8900-2480, t_vict@mail.ru.

Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – многофакторное хроническое гетерогенное воспалительное заболевание респираторной системы с преимущественным поражением дистальных отделов дыхательных путей и легочной паренхимы [6]. ХОБЛ свойственно развитие системных эффектов, которые обуславливают развитие тяжелых осложнений, дополнительно отягчающих течение болезни у отдельных пациентов. ХОБЛ является ведущей причиной заболеваемости и смертности во всем мире [6]. Курение – наиболее изученный, но не единственный фактор риска ХОБЛ; заболевание развивается в результате сложного взаимодействия генетических и внешнестрессовых факторов [4, 6]. Для лучшего понимания механизмов взаимосвязи между ними необходимо проведение дальнейших исследований молекулярного патогенеза ХОБЛ. На данный момент все чаще обсуждается еще один аспект патогенеза ХОБЛ – это нарушение регуляции стрессовых реакций, препятствующих клеточному старению [4]. Окислительный стресс является ключевым фактором ускоренного клеточного старения [8]. Многие эндогенные молекулы противодействуют механиз-

мам клеточного старения, и в качестве потенциальных факторов, замедляющих старение, рассматриваются НАД-зависимые протеин-деацетилазы из семейства сиртуинов [15]. Недостаточность сиртуинов рассматривается как один из механизмов ускоренного старения легких при ХОБЛ [4, 10]. Сиртуины принимают участие в образовании и функционировании митохондрий, защите mtДНК от повреждений и, таким образом, могут играть ключевую роль в патогенезе возраст-ассоциированных заболеваний [5].

Целью настоящего исследования является анализ вклада генов НАД-зависимых деацетилаз семейства сиртуинов (*SIRT2*, *SIRT1*, *SIRT3*, *SIRT6*) в риск развития различных фенотипов ХОБЛ.

Материалы и методы исследования. В работе использовали образцы ДНК неродственных индивидов, татар по этнической принадлежности, проживающих на территории Республики Башкортостан. Исследование одобрено комитетом по этике ИБГ УНЦ РАН (протоколы №.17 от 07.12.2010, №.19 от 01.11.2022). От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие. Группа боль-

ных включала 621 индивида, из них 539 мужчин (86,79%) и 82 женщины (13,21%). Курильщиков и бывших курильщиков 510 чел. (82,13%), некурящих 111 (17,87%). Индекс курения у курильщиков и бывших курильщиков составил $45,34 \pm 23,84$ пачки/лет. С целью выявления генетических маркеров, ассоциированных с фенотипами ХОБЛ, проводили сравнение группы контроля и пациентов, дифференцированных по современной классификации [7], которая включала интегральную оценку фенотипа ХОБЛ с учетом количества обострений в год, результатов специализированных опросников: очечный тест по ХОБЛ (CAT - COPD Assessment Test), шкала оценки одышки медицинского исследовательского совета (MRC - Medical Research Council Dyspnea Scale) и показателей исследования функции внешнего дыхания. Было выделено два фенотипа: 1-я группа - тяжелая форма ХОБЛ с частыми обострениями (N=331), средний возраст составил $65,39 \pm 10,01$ года; 2-я группа - больные ХОБЛ со стабильным течением заболевания (N=290), средний возраст $65,03 \pm 8,17$ года. Группа контроля включала 624 индивидов (из них 555 мужчин (88,94%) и 69 женщин (11,06%)), средний возраст составил $59,67 \pm 12,31$, курильщики и бывшие курильщики - 526 (84,29%) и некурящие - 98 (15,71%); индекс курения у курильщиков составлял $38,75 \pm 24,87$ пачек/лет.

Подробное описание критерии включения и исключения из групп исследования описано нами ранее [2]. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием фенольно-хлороформной экстракции. Для нашего исследования были выбраны следующие полиморфные локусы: *SIRT1* (rs3758391, rs3818292), *SIRT2* (rs10410544), *SIRT3* (rs3782116, rs536715), *SIRT6* (rs107251). Полиморфные варианты генов анализировали при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени коммерческими наборами с флуоресцентной детекцией (<https://www.oligos.ru>, ООО "ДНК-Синтез", Россия) на приборе BioRad CFX96™ («Bio-Rad Laboratories», Inc, USA). Подробно методы анализа описаны нами ранее [2].

Статистическую обработку данных проводили, используя пакеты прикладных программ IBM SPSS Статистика 22.0. Подробное описание стандартных методов статистического анализа приведено нами ранее [2].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены данные по ча-

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов сиртуинов в исследованных группах

Ген, полиморфный локус	Генотипы, аллели	ХОБЛ, абс. (%)	Контроль, абс. (%)	P
Тяжелая форма ХОБЛ с частыми обострениями (N=331)				
<i>SIRT2</i> rs10410544 T>C	CC/CT/TT	144/134/53 (43,50/40,48/16,01)	254/271/99 (40,71/43,43/15,87)	0,653
	C/T	422/240 (63,75/36,25)	779/469 (62,42/37,58)	0,602
<i>SIRT1</i> rs3758391 T>C	TT/TC/CC	104/131/96 (31,42/39,58/29,00)	168/294/162 (26,92/47,12/25,96)	0,081
	T/C	339/323 (51,21/48,79)	630/618 (50,48/49,52)	0,799
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	AA/AG/GG	175/144/12 (52,87/43,50/3,63)	375/213/36 (60,10/34,13/5,77)	0,011
	A/G	494/168 (74,62/25,38)	963/285 (77,16/22,84)	0,236
<i>SIRT3</i> rs3782116 G>A	GG/GA/AA	165/118/48 (49,85/35,65/14,50)	239/287/98 (38,30/45,99/15,71)	0,002
	G/A	448/214 (67,67/32,33)	765/483 (61,30/38,70)	0,007
<i>SIRT3</i> rs536715 G>A	GG/GA/AA	222/73/36 (67,07/22,05/10,88)	324/249/51 (51,92/39,90/8,17)	0,00001
	G/A	517/145 (78,10/21,90)	897/351 (71,88/28,13)	0,004
<i>SIRT6</i> rs107251 C>T	CC/CT/TT	212/86/33 (64,05/25,98/9,97)	333/243/48 (53,37/38,94/7,69)	0,00001
	C/T	510/152 (77,04/22,96)	909/339 (72,84/27,16)	0,052
Больные ХОБЛ со стабильным течением заболевания (N=290)				
<i>SIRT2</i> rs10410544 T>C	CC/CT/TT	128/116/46 (44,14/40,00/15,86)	254/271/99 (40,71/43,43/15,87)	0,575
	C/T	372/208 (64,14/35,86)	779/469 (62,42/37,58)	0,512
<i>SIRT1</i> rs3758391 T>C	TT/TC/CC	81/133/76 (27,93/45,86/26,21)	168/294/162 (26,92/47,12/25,96)	0,930
	T/C	295/285 (50,86/49,14)	630/618 (50,48/49,52)	0,919
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	AA/AG/GG	148/129/13 (51,03/44,48/4,48)	375/213/36 (60,10/34,13/5,77)	0,01
	A/G	425/155 (73,28/26,72)	963/285 (77,16/22,84)	0,08
<i>SIRT3</i> rs3782116 G>A	GG/GA/AA	129/111/50 (44,48/38,28/17,24)	239/287/98 (38,30/45,99/15,71)	0,097
	G/A	369/211 (63,62/36,38)	765/483 (61,30/38,70)	0,368
<i>SIRT3</i> rs536715 G>A	GG/GA/AA	201/76/13 (69,31/26,21/4,48)	324/249/51 (51,92/39,90/8,17)	0,00001
	G/A	478/102 (82,41/17,59)	897/351 (71,88/28,13)	0,00001
<i>SIRT6</i> rs107251 C>T	CC/CT/TT	184/75/31 (63,45/25,86/10,69)	333/243/48 (53,37/38,94/7,69)	0,00001
	C/T	443/137 (76,38/23,62)	909/339 (72,84/27,16)	0,121

Примечание. Р – значимость различий между группами по частотам аллелей и генотипов (тест χ^2 на гомогенность выборок).

Таблица 2

Результаты анализа ассоциации полиморфных локусов генов сиртуинов с развитием ХОБЛ в группах, дифференцированных по фенотипу заболевания

Ген, полиморфный локус	Редкий аллель	N	Генотип, модель	OR _{adj} (CI95%)	P _{adj}	P _{cor-FDR}
Тяжелая форма ХОБЛ с частыми обострениями (N=331)						
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	G	955	AA AG+GG доминантная	1,00 1,35 (1,01-1,81)	0,046	0,046
			AA+GG AG	1,00 1,49 (1,10-2,00)	0,0097	0,0125
<i>SIRT3</i> rs3782116 G>A	A	955	GG GA+AA доминантная	1,00 0,63 (0,46-0,86)	0,0034	0,0068
			AA+GG AG	1,00 0,66 (0,48-0,90)	0,0088	0,0125
			лог-аддитивная	0,77 (0,62-0,97)	0,022	0,0244
<i>SIRT3</i> rs536715 G>A	A	955	GG GA+AA доминантная	1,00 0,53 (0,39-0,72)	0,00001	0,000033
			AA+GG AG	1,00 0,43 (0,30-0,59)	0,00001	0,000033
			лог-аддитивная	0,74 (0,59-0,94)	0,01	0,0125
<i>SIRT6</i> rs107251 C>T	T	955	CC CT+TT доминантная	1,00 0,65 (0,48-0,86)	0,003	0,0068
			CC+TT CT	1,00 0,55 (0,40-0,75)	0,00001	0,000033
Больные ХОБЛ со стабильным течением заболевания (N=290)						
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	G	914	AA AG+GG доминантная	1,00 1,45 (1,08-1,96)	0,015	0,015
			AA+GG AG	1,00 1,54 (1,14-2,08)	0,0055	0,007
<i>SIRT3</i> rs536715 G>A	A	914	GG GA+AA доминантная	1,00 0,48 (0,35-0,66)	0,00001	0,000035
			AA+GG AG	1,00 0,53 (0,38-0,75)	0,0002	0,00035
			лог-аддитивная	0,55 (0,42-0,72)	0,00001	0,000035
<i>SIRT6</i> rs107251 C>T	T	914	CC CT+TT доминантная	1,00 0,66 (0,48-0,89)	0,0061	0,0071
			CC+TT CT	1,00 0,54 (0,39-0,75)	0,0002	0,00035

Примечание. Приведены информативные модели, полученные в результате лог-регрессионного анализа; N - количество индивидов, включенных в регрессионный анализ; P_{adj} - значимость для теста отношения правдоподобия лог-регрессионной модели с учетом возраста, пола, статуса и индекса курения; P_{cor-FDR} - значимость после поправки на множественное тестирование FDR (False Discovery Rate); OR_{adj} - отношение шансов с учетом соответствующих факторов; CI 95% - 95% доверительный интервал для OR; аддитивная модель на дозу редкого аллеля - увеличение дозы редкого аллеля в ряду: гомозигота по частому аллелю (0) - гетерозигота (1) - гомозигота по редкому аллелю (2).

SIRT1 является наиболее изученным членом семейства сиртуинов млекопитающих, играет важную роль в сигнальных путях, вовлеченных в клеточное старение и гибель клеток [5]. *SIRT1* деацетилирует многие клю-

чевые регуляторные белки и факторы транскрипции, участвующие в репарации ДНК, воспалении, экспрессии антиоксидантных генов и клеточном старении [14]. Ранее было показано,

что уровень *SIRT1* снижен в периферических легочных и циркулирующих мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с ХОБЛ [12]. Нами установлено, что риск развития

обоих фенотипов ХОБЛ выше у гетерозиготных носителей локуса *SIRT1* (rs3818292).

SIRT3 является основной митохондриальной деацетилазой, регулирующей работу многих ферментов, вовлеченных в энергетический метаболизм, компоненты дыхательной цепи, цикл трикарбоновых кислот, кетогенез и бета-окисление жирных кислот [15]. *SIRT3* может напрямую контролировать продукцию активированных форм кислорода, деацетилируя марганцевую супероксиддисмутазу, основной митохондриальный антиоксидантный фермент [13]. *SIRT3* играет про- и антиапоптотическую роль при различных патологических состояниях [15]. Нами изучена ассоциация двух функциональных полиморфизмов гена *SIRT3* (rs3782116 и rs536715) с различными фенотипами ХОБЛ. Ассоциация с развитием тяжелой формы ХОБЛ с частыми обострениями установлена для обоих полиморфных локусов, тогда как при ХОБЛ со стабильным течением заболевания ассоциация была показана только с локусом rs536715. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что наиболее специфическим маркером развития фенотипа ХОБЛ с частыми обострениями является локус rs3782116 гена *SIRT3*. Имеются данные по ассоциации локусов гена *SIRT3* с заболеваниями, в патогенезе которых окислительный стресс и клеточное старение играют ключевую роль [11].

Локус *SIRT6* (rs107251) был связан с развитием обоих фенотипов ХОБЛ. *SIRT6* проявляет активность АДФ-рибозилтрансферазы и гистондеацетилазы и играет роль в репарации ДНК [9]. В работе [3] было показано снижение уровня *SIRT6* в эпителиальных клетках дыхательных путей пациентов

с ХОБЛ, вызванное воздействием сигаретного дыма. Установлена ассоциация локусов гена *SIRT6* с сердечно-сосудистыми заболеваниями, которые часто являются коморбидной патологией при ХОБЛ и имеют сходные патогенетические механизмы, связанные с окислительным стрессом и клеточным старением [1].

Заключение. В результате проведенного исследования нами выявлены значимые ассоциации полиморфных вариантов генов *SIRT1* (rs3818292), *SIRT3* (rs536715) и *SIRT6* (rs107251) с развитием различных фенотипов ХОБЛ. Специфическим маркером развития фенотипа ХОБЛ с частыми обострениями является локус rs3782116 гена *SIRT3*. Полученные данные подтверждают гипотезу о существенной роли НАД-зависимых протеин-деацетилаз из семейства сиртуинов и механизмов клеточного старения в формировании наследственной предрасположенности к развитию ХОБЛ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00019, <https://rscf.ru/project/23-25-00019/>. с использованием оборудования ЦКП "Биомика" и УНУ "КОДИНК" (ИБГ УФИЦ РАН).

Литература

1. Association of Sirtuin Gene Polymorphisms with Susceptibility to Coronary Artery Disease in a North Chinese Population / X. Song [et al.] // Biomed. Res. Int. 2022. Vol. 2022. P. 4294008. doi: 10.1155/2022/4294008.
2. Associations of the NRF2/KEAP1 pathway and antioxidant defense gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease / G.F. Korytna [et al.] // Gene. 2019. No. 692. P. 102-112. doi: 10.1016/j.gene.2018.12.061.
3. Autophagy induction by SIRT6 through attenuation of insulin-like growth factor signaling is involved in the regulation of human bronchial epithelial cell senescence / N. Takasaka [et al.] // J. Immunol. 2014. Vol. 192. No.3. P. 958-968. doi: 10.4049/jimmunol.1302341.
4. Barnes P.J., Baker J., Donnelly L.E. Cellular Senescence as a Mechanism and Target in Chronic Lung Diseases // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2019. Vol. 200. No.5. P. 556-564. doi: 10.1164/rccm.201810-1975TR.
5. Finkel T., Deng C.X., Mostoslavsky R. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins // Nature. 2009. Vol. 460. No.7255. P. 587-591. doi: 10.1038/nature08197.
6. Genetic Advances in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Insights from COPDGene / M.F. Ragland [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 2019. Vol. 200. No. 6. P. 677-690. doi: 10.1164/rccm.201808-1455SO.
7. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: 2023 report [электронный ресурс]. Доступ по ссылке <https://goldcopd.org/2023-gold-report-2/>
8. Kirkham P.A., Barnes P.J. Oxidative stress in COPD // Chest. 2013. T.144. No.1. P. 266-273. doi: 10.1378/chest.12-2664
9. Kugel S., Mostoslavsky R. Chromatin and beyond: the multitasking roles for SIRT6 // Trends Biochem. Sci. 2014. Vol. 39. No.2. P. 72-81. doi: 10.1016/j.tibs.2013.12.002.
10. Roles of sirtuin family members in chronic obstructive pulmonary disease / J.R. Zhang [et al.] // Respir. Res. 2022. Vol. 23. No.1. P.66. doi: 10.1186/s12931-022-01986-y.
11. SIRT3: A New Regulator of Cardiovascular Diseases / W. Sun [et al.] // Oxid. Med. Cell Longev. 2018. Vol. 2018. P. 7293861. doi: 10.1155/2018/7293861.
12. SIRT1, an antiinflammatory and antiaging protein, is decreased in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease / S. Rajendrasozhan [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2008. Vol. 177. No.8. P. 861-870. doi: 10.1164/rccm.200708-1269OC.
13. Sirt3 Impairment and SOD2 Hyperacetylation in Vascular Oxidative Stress and Hypertension / A.E. Dikalova [et al.] // Circ. Res. 2017. Vol. 121. No.5. P. 564-574. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310933.
14. SIRT1 negatively regulates amyloid-beta-induced inflammation via the NF-κB pathway / L. Cao [et al.] // Braz. J. Med. Biol. Res. 2013. Vol. 46. No.8. P. 659-669. doi: 10.1590/1414-431X20132903.
15. The sirtuin family in health and disease / Q.J. Wu [et al.] // Signal Transduct. Target Ther. 2022. Vol. 7. No.1. P. 402. doi: 10.1038/s41392-022-01257-8.