

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

## Роль генов PI3K/АКТ/mTOR-сигнального каскада и сиртуинов в развитии хронической обструктивной болезни легких

Г.Ф. Корытина<sup>1,2</sup>✉, Л.З. Ахмадишина<sup>1</sup>, В.А. Маркелов<sup>1,2</sup>, Ю.Г. Азнабаева<sup>2</sup>, О.В. Кочетова<sup>1</sup>, Т.Р. Насибуллин<sup>1</sup>, А.П. Ларкина<sup>1</sup>, Н.Н. Хуснутдинова<sup>1</sup>, Н.Ш. Загидуллин<sup>2</sup>, Т.В. Викторова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

<sup>2</sup> Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

✉ guly\_kory@mail.ru

**Аннотация.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – многофакторное заболевание дыхательной системы, развивающееся в результате комплексного взаимодействия молекулярно-генетических и средовых факторов, тесно связанных с образом жизни. Цель исследования – анализ комбинированного вклада генов PI3K/АКТ/mTOR-сигнального каскада (*PIK3R1*, *AKT1*, *MTOR*, *PTEN*) и сиртуинов (*SIRT1*, *SIRT3*, *SIRT6*) в риск развития хронической обструктивной болезни легких. В работе использованы образцы ДНК 1245 индивидов. Полиморфные варианты генов *SIRT1* (rs3758391, rs3818292), *SIRT3* (rs3782116, rs536715), *SIRT6* (rs107251), *AKT1* (rs2494732), *PIK3R1* (rs10515070, rs831125, rs3730089), *MTOR* (rs2295080, rs2536), *PTEN* (rs701848, rs2735343) анализировали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Логистическую регрессию использовали для выявления ассоциации полиморфных локусов в различных моделях. Проводили линейный регрессионный анализ для оценки вклада генотипов изучаемых локусов в вариабельность показателей функции внешнего дыхания и индекса курения. Установлена ассоциация генов: *SIRT1* (rs3818292) ( $P = 0.001$ , OR = 1.51 для генотипа AG), *SIRT3* (rs3782116) ( $P = 0.0055$ , OR = 0.69) и *SIRT3* (rs536715) ( $P = 0.00001$ , OR = 0.50) в доминантной модели; *SIRT6* (rs107251) ( $P = 0.00001$ , OR = 0.55 для генотипа CT), *PIK3R1*: (rs10515070 ( $P = 0.0023$ , OR = 1.47 для генотипа AT), rs831125 ( $P = 0.00001$ , OR = 2.28 для генотипа AG), rs3730089 ( $P = 0.0007$ , OR = 1.73 для генотипа GG)) и *PTEN*: (rs701848 ( $P = 0.0015$ , OR = 1.35 в лог-аддитивной модели) и rs2735343 ( $P = 0.0001$ , OR = 1.64 для генотипа GC)). Обнаружена вариабельность показателей функции легочного дыхания в зависимости от полиморфных вариантов генов *SIRT1* (rs3818292), *SIRT3* (rs3782116), *PIK3R1* (rs3730089) и *MTOR* (rs2536). Идентифицированы ген-генные сочетания, ассоциированные с ХОБЛ; наибольший риск развития ХОБЛ определялся сочетанием аллеля G гена *PIK3R1* (rs831125) с генотипом GG гена *SIRT3* (rs536715) (OR = 3.45). Полученные результаты полигенного анализа указывают на взаимодействие генов, кодирующих сиртуины *SIRT3*, *SIRT2*, *SIRT6* и *PIK3R1*, *PTEN*, *MTOR*, и находят подтверждение в функциональной взаимосвязи сиртуинов и PI3K/АКТ/mTOR-сигнального каскада.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких; PI3K/АКТ/mTOR-сигнальный каскад; сиртуины; клеточное старение; окислительный стресс.

**Для цитирования:** Корытина Г.Ф., Ахмадишина Л.З., Маркелов В.А., Азнабаева Ю.Г., Кочетова О.В., Насибуллин Т.Р., Ларкина А.П., Хуснутдинова Н.Н., Загидуллин Н.Ш., Викторова Т.В. Роль генов PI3K/АКТ/mTOR-сигнального каскада и сиртуинов в развитии хронической обструктивной болезни легких. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(5):512-521. DOI 10.18699/VJGB-23-62

## Role of PI3K/АКТ/mTOR signaling pathway and sirtuin genes in chronic obstructive pulmonary disease development

G.F. Korytina<sup>1,2</sup>✉, L.Z. Akhmadishina<sup>1</sup>, V.A. Markelov<sup>1,2</sup>, Y.G. Aznabaeva<sup>2</sup>, O.V. Kochetova<sup>1</sup>, T.R. Nasibullin<sup>1</sup>, A.P. Larkina<sup>1</sup>, N.N. Khusnutdinova<sup>1</sup>, N.Sh. Zagidullin<sup>2</sup>, T.V. Victorova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

<sup>2</sup> Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

✉ guly\_kory@mail.ru

**Abstract.** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a multifactorial disease of the respiratory system which develops as a result of a complex interaction of genetic and environmental factors closely related to lifestyle. We aimed to assess the combined effect of the PI3K/АКТ/mTOR signaling pathway (*PIK3R1*, *AKT1*, *MTOR*, *PTEN*) and sirtuin (*SIRT1*, *SIRT3*, *SIRT6*) genes to COPD risk. SNPs of *SIRT1* (rs3758391, rs3818292), *SIRT3* (rs3782116, rs536715), *SIRT6* (rs107251), *AKT1* (rs2494732), *PIK3R1* (rs10515070, rs831125, rs3730089), *MTOR* (rs2295080, rs2536), *PTEN* (rs701848, rs2735343) genes were genotyped by real-time polymerase chain reaction (PCR) among 1245 case and

control samples. Logistic regression was used to detect the association of SNPs in different models. Linear regression analyses were performed to estimate the relationship between SNPs and lung function parameters and smoking pack-years. Significant associations with COPD were identified for *SIRT1* (rs3818292) ( $P = 0.001$ , OR = 1.51 for AG), *SIRT3* (rs3782116) ( $P = 0.0055$ , OR = 0.69) and *SIRT3* (rs536715) ( $P = 0.00001$ , OR = 0.50) under the dominant model, *SIRT6* (rs107251) ( $P = 0.00001$ , OR = 0.55 for CT), *PIK3R1*: (rs10515070 ( $P = 0.0023$ , OR = 1.47 for AT), rs831125 ( $P = 0.00001$ , OR = 2.28 for AG), rs3730089 ( $P = 0.0007$ , OR = 1.73 for GG)), *PTEN*: (rs701848 ( $P = 0.0015$ , OR = 1.35 under the log-additive model), and rs2735343 ( $P = 0.0001$ , OR = 1.64 for GC)). A significant genotype-dependent variation of lung function parameters was observed for *SIRT1* (rs3818292), *SIRT3* (rs3782116), *PIK3R1* (rs3730089), and *MTOR* (rs2536). Gene-gene combinations that remained significantly associated with COPD were obtained; the highest risk of COPD was conferred by a combination of G allele of the *PIK3R1* (rs831125) gene and GG of *SIRT3* (rs536715) (OR = 3.45). The obtained results of polygenic analysis indicate the interaction of genes encoding sirtuins *SIRT3*, *SIRT2*, *SIRT6* and *PIK3R1*, *PTEN*, *MTOR* and confirm the functional relationship between sirtuins and the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease; PI3K/AKT/mTOR signaling pathway; sirtuins; cellular senescence; oxidative stress.

**For citation:** Korytina G.F., Akhmadishina L.Z., Markelov V.A., Aznabaeva Y.G., Kochetova O.V., Nasibullin T.R., Larkina A.P., Khusnutdinova N.N., Zagidullin N.Sh., Victorova T.V. Role of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway and sirtuin genes in chronic obstructive pulmonary disease development. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(5):512-521. DOI 10.18699/VJGB-23-62

## Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – многофакторное заболевание дыхательной системы, затрагивающее дистальные отделы респираторных путей (bronхи, бронхиолы) и легочную паренхиму, с развитием эмфиземы легких (Чучалин и др., 2022). Это заболевание развивается в результате комплексного взаимодействия молекулярно-генетических и средовых факторов, тесно связанных с образом жизни, и курение считается основной причиной возникновения ХОБЛ (Ragland et al., 2019). Опубликованные данные свидетельствуют о том, что патогенез ХОБЛ может включать нарушение регуляции стрессовых реакций, препятствующих клеточному старению, с широким кругом сигнальных каскадов и их регуляторов (Ryter et al., 2018).

PI3K/AKT/mTOR-внутриклеточный сигнальный путь – один из универсальных путей контроля роста, метаболизма и пролиферации клеток (Ersahin et al., 2015). Ключевыми компонентами сигнального пути являются: фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K), серин/треониновая протеинкиназа (AKT) и серин/треонин киназа (mammalian target of rapamycin) (mTOR) (Ersahin et al., 2015). Передача сигналов через PI3K/AKT/mTOR-сигнальный каскад имеет решающее значение для клеточного старения. Этот сигнальный каскад ингибируется тирозинфосфатазами PTEN (phosphatase and tensin homolog) и SHIP-1 (inositol polyphosphate-5-phosphatase D). Оба фермента имеют чувствительные к окислению остатки цистеина в активном сайте (Worby, Dixon, 2014).

Окислительный стресс – основной механизм, который вызывает ускоренное старение за счет его повреждающего воздействия на ДНК и активации PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада (Wang et al., 2013). При ХОБЛ и других возраст-ассоциированных заболеваниях экспрессия генов, кодирующих эндогенные антиоксидантные молекулы, снижается, что еще больше увеличивает уровень окислительного стресса и приводит к активации клеточного старения (Kirkham, Barnes, 2013). В качестве

потенциальных факторов, замедляющих старение, рассматриваются НАД-зависимые протеин-деацетилазы из семейства сиртуинов (Ito, Barnes, 2009).

Цель настоящего исследования – анализ комбинированного вклада генов PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада (*PIK3R1*, *AKT1*, *MTOR*, *PTEN*) и сиртуинов (*SIRT1*, *SIRT3*, *SIRT6*) в риск развития хронической обструктивной болезни легких.

## Материалы и методы

В работе использовали образцы ДНК неродственных индивидов, татар по этнической принадлежности, проживающих на территории Республики Башкортостан. Исследование одобрено комитетом по этике Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Уфимского федерального исследовательского центра РАН (протокол № 17 от 07.12.2010). От всех включенных в исследование участников получено информированное добровольное согласие. Группа больных включала 621 индивида (из них 539 мужчин (86.79 %) и 82 женщины (13.21 %)), средний возраст составил  $64.42 \pm 10.71$  лет. Среди больных ХОБЛ курильщиков и бывших курильщиков – 510 (82.13 %), некурящих – 111 (17.87 %). Индекс курения у курильщиков и бывших курильщиков составил  $45.34 \pm 23.84$  пачек/лет. Группа контроля включала 624 индивида (из них 555 мужчин (89.94 %) и 69 женщин (11.06 %)), средний возраст был  $59.67 \pm 12.31$ , курильщики и бывшие курильщики – 526 (84.29 %) и некурящие – 98 (15.71 %); индекс курения у курильщиков составлял  $38.75 \pm 24.87$  пачек/лет.

У всех больных исследовали функцию внешнего дыхания методом спирометрии, оценивали жизненную емкость легких (ЖЕЛ), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), соотношение объема форсированного выдоха в 1 с и жизненной емкости легких (ОФВ1/ЖЕЛ). В группе больных показатели (в % от нормы) составляли: ОФВ1 =  $40.75 \pm 18.33$ ; ФЖЕЛ =  $45.01 \pm 18.22$ ;

ЖЕЛ =  $49.32 \pm 14.34$ ; ОФВ1/ФЖЕЛ =  $59.5 \pm 12.34$ . Критерии включения и исключения из групп исследования подробно описаны нами ранее (Korytina et al., 2019).

**Генотипирование.** ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием фенольно-хлороформной экстракции. Для нашего исследования были выбраны следующие полиморфные локусы: *SIRT1* (rs3758391, rs3818292), *SIRT3* (rs3782116, rs536715), *SIRT6* (rs107251), *AKT1* (rs2494732), *PIK3R1* (rs10515070, rs831125, rs3730089), *MTOR* (rs2295080, rs2536), *PTEN* (rs701848, rs2735343) (Приложение 1)<sup>1</sup>.

Критерии отбора полиморфных локусов: имеющие функциональную значимость и/или ассоциацию с многофакторными заболеваниями человека, частота редкого аллеля (MAF)  $\geq 5\%$  в популяциях европеоидов, по данным базы the National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>). Функциональная значимость полиморфных локусов исследовали по базам RegulomeDB Version 1.1 (<https://regulomedb.org>), SNPinfo Web Server (<https://snpinfo.nih.gov>) и HaploReg v3 (Ward, Kellis, 2016). Данные представлены в Приложении 2. Полиморфные варианты генов анализировали при помощи полимеразной цепной реакции в реальном времени коммерческими наборами с флуоресцентной детекцией (<https://www.oligos.ru>, ООО «ДНК-Синтез», Россия) на приборе BioRad CFX96™ (Bio-Rad Laboratories, Inc, США). Методы анализа подробно описаны нами ранее (Korytina et al., 2019).

**Статистическую обработку данных** выполняли с использованием пакетов прикладных программ IBM SPSS Statistics v22.0 и PLINK v. 1.07 (Purcell et al., 2007). Подробное описание стандартных методов статистического анализа представлено в (Korytina et al., 2019). Анализ ассоциаций сочетаний аллелей/генотипов с ХОБЛ осуществляли с помощью программы APSampler 3.6.1 (<http://sourceforge.net/projects/apsampler/>). Поправку на множественное тестирование проводили с помощью метода оценки доли ложноположительных результатов FDR (false discovery rate) (Benjamini–Hochberg), при использовании программы (<http://www.sdmproject.com/utilinies/?show=FDR>) и получали новое значение  $P_{\text{cor-FDR}}$ . Частоты гаплотипов, стандартные коэффициенты сцепления для LD ( $D'$ ) были рассчитаны в программе Haploview 4.2.

## Результаты

Прежде чем приступить к анализу ассоциации генов-кандидатов с развитием ХОБЛ, осуществили проверку соответствия распределения частот генотипов полиморфных локусов равновесию Харди–Вайнберга, а также оценку частоты редкого аллеля как для смешанной выборки больных и контроля, так и отдельно для каждой группы (см. Приложение 1). Выявленные частоты генотипов всех исследованных полиморфных локусов в группе контроля были в соответствии равновесию Харди–Вайнберга: *SIRT1* (rs3758391) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.24$ ), *SIRT1* (rs3818292) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.47$ ), *SIRT3* (rs3782116) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.5$ ), *SIRT3* (rs536715) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.75$ ), *SIRT6* (rs107251) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.67$ ),

*AKT1* (rs2494732) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.2$ ), *PIK3R1* (rs10515070) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.65$ ), *PIK3R1* (rs831125) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.25$ ), *PIK3R1* (rs3730089) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.22$ ), *MTOR* (rs2295080) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.15$ ), *MTOR* (rs2536) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.24$ ), *PTEN* (rs701848) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.85$ ), *PTEN* (rs2735343) ( $P_{\text{Х-В}} = 0.06$ ).

Обнаружены статистически значимые различия по распределению частот генотипов и/или аллелей между группами больных ХОБЛ и контролем для полиморфных локусов генов *SIRT1* (rs3818292), *SIRT3* (rs3782116, rs536715), *SIRT6* (rs107251), *AKT1* (rs2494732), *PIK3R1* (rs10515070, rs831125, rs3730089), *PTEN* (rs701848, rs2735343) (табл. 1). Статистически значимые ассоциации исследованных полиморфных локусов с развитием ХОБЛ резюмированы в табл. 2.

Установлена ассоциация локуса *SIRT1* (rs3818292) с ХОБЛ в доминантной модели ( $P_{\text{adj}} = 0.0066$ , OR = 1.40), риск развития заболевания возрастал у носителей гетерозиготного генотипа ( $P_{\text{adj}} = 0.001$ , OR = 1.51). Полиморфные варианты локусов rs3782116 и rs536715 гена *SIRT3* ассоциировали с ХОБЛ; так, для rs3782116 статистически значимой была ассоциация с гетерозиготным генотипом ( $P_{\text{adj}} = 0.0052$ , OR = 0.69) и в доминантной модели ( $P_{\text{adj}} = 0.0055$ , OR = 0.69). Ассоциация с локусом rs536715 подтверждалась в доминантной ( $P_{\text{adj}} = 0.00001$ , OR = 0.50) и аддитивной ( $P_{\text{adj}} = 0.00001$ , OR = 0.66) моделях и с гетерозиготным генотипом ( $P_{\text{adj}} = 0.00001$ , OR = 0.48). Необходимо отметить, что риск развития заболевания был в обоих случаях связан с частым аллелем G (rs3782116 – OR = 1.21 95 % CI 1.03–1.43 и rs536715 – OR = 1.58 95 % CI 1.32–1.91) гомозиготным генотипом GG (rs3782116 – OR = 1.44 95 % CI 1.16–1.81 и rs536715 – OR = 1.99 95 % CI 1.58–2.51).

Нами проведен анализ сцепления локусов rs3758391 и rs3818292 гена *SIRT1*, rs3782116 и rs536715 гена *SIRT3*, который показал отсутствие неравновесия по сцеплению между локусами гена *SIRT1* ( $D' = 0.168$ ,  $r^2 = 0.097$ ) и гена *SIRT3* ( $D' = 0.28$ ,  $r^2 = 0.011$ ). Исходя из полученных данных, анализ ассоциации гаплотипов исследованных локусов с ХОБЛ не проводили. Локус *SIRT6* (rs107251) ассоциировал с ХОБЛ с доминантной модели ( $P_{\text{adj}} = 0.0005$ , OR = 0.65), но более значимой была ассоциация с гетерозиготным генотипом СТ ( $P_{\text{adj}} = 0.00001$ , OR = 0.55). Маркером риска выступал гомозиготный по частому аллелю генотип СС (OR = 1.54 95 % CI 1.23–1.93).

Выявлены статистически значимые ассоциации полиморфных локусов rs10515070, rs831125, rs3730089 гена *PIK3R1* с развитием ХОБЛ. Риск развития заболевания был связан с гетерозиготными генотипами исследованных полиморфных локусов гена *PIK3R1*: rs10515070 ( $P_{\text{adj}} = 0.0023$ , OR = 1.47), rs831125 ( $P_{\text{adj}} = 0.00001$ , OR = 2.28) и генотипом GG rs3730089 ( $P_{\text{adj}} = 0.0007$ , OR = 1.73). Локусы rs10515070, rs831125, rs3730089 показали отсутствие неравновесия по сцеплению; так, для rs10515070 и rs831125 составили:  $D' = 0.02$ ,  $r^2 = 0.00$ , для rs10515070 и rs3730089 –  $D' = 0.127$ ,  $r^2 = 0.008$ , для rs831125 и rs3730089 –  $D' = 0.155$ ,  $r^2 = 0.005$ .

Анализ ассоциации гаплотипов гена *PIK3R1* не проводили. Установлены статистически значимые ассоциации полиморфных локусов rs701848 и rs2735343 гена *PTEN* с ХОБЛ. Ассоциация локуса rs701848 подтверждена в

<sup>1</sup> Приложения 1 и 2 см. по адресу:

<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2023-27/appx18.pdf>

**Таблица 1.** Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада и сиртуинов в группах больных ХОБЛ и здоровых индивидов

Ген, локус	Редкий аллель	Генотипы, аллели	ХОБЛ, n (%) (N = 621)	Здоровые индивиды, n (%) (N = 624)	P
<i>SIRT1</i> rs3758391 T>C	C	TT/TC/CC	184/265/172 (29.63/42.67/27.70)	168/294/162 (26.92/47.12/25.96)	0.283
		T/C	633/609 (50.97/49.03)	630/618 (50.48/49.52)	0.84
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	G	AA/AG/GG	322/273/26 (51.85/43.96/4.19)	375/213/36 (60.10/34.13/5.77)	0.001
		A/G	917/325 (73.83/26.17)	963/285 (77.16/22.84)	0.059
<i>SIRT3</i> rs3782116 G>A	A	GG/GA/AA	294/230/97 (47.34/37.04/15.62)	239/287/98 (38.30/45.99/15.71)	0.003
		G/A	818/424 (65.86/34.14)	765/483 (61.30/38.70)	0.02
<i>SIRT3</i> rs536715 G>A	A	GG/GA/AA	424/148/49 (68.28/23.83/7.89)	324/249/51 (51.92/39.90/8.17)	0.00001
		G/A	996/246 (80.19/19.81)	897/351 (71.88/28.13)	0.00001
<i>SIRT6</i> rs107251 C>T	T	CC/CT/TT	396/160/65 (63.77/25.76/10.47)	333/243/48 (53.37/38.94/7.69)	0.0001
		C/T	952/290 (76.65/23.35)	909/339 (72.84/27.16)	0.032
<i>AKT1</i> rs2494732 T>C	C	TT/CT/CC	193/313/115 (31.08/50.40/18.52)	159/329/136 (25.48/52.72/21.79)	0.062
		T/C	699/543 (56.28/43.72)	647/601 (51.84/48.16)	0.029
<i>PIK3R1</i> rs10515070 T>A	A	TT/TA/AA	175/351/95 (28.18/56.52/15.30)	228/293/103 (36.54/46.96/16.51)	0.001
		T/A	701/541 (56.44/43.56)	749/499 (60.02/39.98)	0.077
<i>PIK3R1</i> rs831125 A>G	G	AA/AG/GG	299/274/48 (48.15/44.12/7.73)	441/161/22 (70.67/25.80/3.53)	0.00001
		A/G	872/370 (70.21/29.79)	1 043/205 (83.57/16.43)	0.00001
<i>PIK3R1</i> rs3730089 G>A	G	AA/AG/GG	230/257/134 (37.04/41.38/21.58)	270/269/85 (43.27/43.11/13.62)	0.0001
		A/G	717/525 (57.73/42.27)	809/439 (64.82/35.18)	0.0001
<i>MTOR</i> rs2295080 T>G	G	TT/TG/GG	220/304/97 (35.43/48.95/15.62)	218/318/88 (34.94/50.96/14.10)	0.686
		T/G	744/498 (59.90/40.10)	754/494 (60.42/39.58)	0.825
<i>MTOR</i> rs2536 T>C	C	TT/TC/CC	580/41/0 (93.40/6.60/0)	567/55/2 (90.87/8.81/0.32)	0.124
		T/C	1 201/41 (96.70/3.30)	1 189/59 (95.27/4.73)	0.087
<i>PTEN</i> rs701848 T>C	C	TT/CT/CC	156/324/141 (25.12/52.17/22.71)	212/306/106 (33.97/49.04/16.99)	0.0001
		T/C	636/606 (51.21/48.79)	730/518 (58.49/41.51)	0.0001
<i>PTEN</i> rs2735343 G>C	C	GG/GC/CC	169/355/97 (27.21/57.17/15.62)	217/280/127 (34.78/44.87/20.35)	0.0001
		G/C	693/549 (55.80/44.20)	714/534 (57.21/42.79)	0.52

Примечание. P – значимость различий между группами по частотам аллелей и генотипов (тест  $\chi^2$  на гомогенность выборок).

**Таблица 2.** Статистически значимые ассоциации полиморфных локусов генов PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада и сиртуинов с ХОБЛ

Ген, локус	Редкий аллель	N	Генотип/модель	OR <sub>adj</sub> (CI 95 %)	P <sub>adj</sub>	P <sub>cor-FDR</sub>		
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	G	1245	AA	1.00	0.0066	0.0093		
			AG+GG доминантная	1.40 (1.10–1.78)				
			AA+GG	1.00			0.001	0.0024
			AG	1.51 (1.18–1.94)				
			лог-аддитивная	1.21 (0.99–1.49)				
<i>SIRT3</i> rs3782116 G>A	A	1245	G	1.19 (0.99–1.44)	0.059	0.062		
			GG	1.00	0.0055	0.008		
			GA+AA доминантная	0.69 (0.53–0.90)				
			AA+GG	1.00			0.0052	0.008
			AG	0.69 (0.53–1.90)				
лог-аддитивная	0.84 (0.7–1.00)							
<i>SIRT3</i> rs536715 G>A	A	1245	A	0.82 (0.69–0.96)	0.02	0.03		
			GG	1.00	0.00001	3.85e-05		
			GA+AA доминантная	0.50 (0.39–0.65)				
			AA+GG	1.00			0.00001	3.85e-05
			AG	0.48 (0.36–0.62)				
лог-аддитивная	0.66 (0.55–0.80)							
<i>SIRT6</i> rs107251 C>T	T	1245	A	0.63 (0.52–0.76)	0.00001	3.85e-05		
			CC	1.00	0.0005	0.0015		
			CT+TT доминантная	0.65 (0.51–0.83)				
			CC+TT	1.00			0.00001	3.85e-05
			CT	0.55 (0.42–0.71)				
лог-аддитивная	0.84 (0.70–1.00)							
<i>PIK3R1</i> rs10515070 T>A	A	1245	T	0.82 (0.68–0.97)	0.032	0.039		
			TT	1.00	0.0042	0.007		
			TA+AA доминантная	1.47 (1.13–1.92)				
			TT+AA	1.00			0.0023	0.0044
			TA	1.47 (1.15–1.88)				
лог-аддитивная	1.17 (0.98–1.41)							
<i>PIK3R1</i> rs831125 A>G	G	1245	A	1.15 (0.98–1.36)	0.077	0.088		
			AA	1.00	0.00001	3.85e-05		
			AG+GG доминантная	2.61 (1.99–3.42)				
			AA+GG	1.00			0.00001	3.85e-05
			AG	2.28 (1.73–3.00)				
лог-аддитивная	2.19 (1.74–2.75)							
<i>PIK3R1</i> rs3730089 G>A	G	1245	G	2.16 (1.78–2.62)	0.00001	3.85e-05		
			AA	1.00	0.037	0.045		
			AG+GG доминантная	1.30 (1.02–1.66)				
			AA+AG	1.00			0.0007	0.0018
			GG рецессивная	1.73 (1.26–2.39)				
лог-аддитивная	1.31 (1.11–1.55)							
<i>PTEN</i> rs701848 T>C	C	1245	G	1.35 (1.15–1.58)	0.0001	0.00033		
			TT	1.00	0.0035	0.006		
			TC+CC доминантная	1.52 (1.15–2.02)				
			TT+TC	1.00			0.028	0.036
			CC рецессивная	1.44 (1.04–1.99)				
лог-аддитивная	1.35 (1.12–1.63)							
<i>PTEN</i> rs2735343 G>C	C	1245	C	1.34 (1.14–1.57)	0.0001	0.00033		
			GG	1.00	0.01	0.013		
			GC+CC доминантная	1.42 (1.09–1.87)				
			GG+CC	1.00			0.0001	0.00033
			GC	1.64 (1.28–2.12)				
лог-аддитивная	1.06 (0.88–1.27)							
			C	1.06 (0.9–1.24)	0.52	0.522		

Примечание. N – количество индивидов, включенных в регрессионный анализ; P<sub>adj</sub> – значимость для теста отношения правдоподобия лог-регрессионной модели с учетом возраста, пола, статуса и индекса курения; OR<sub>adj</sub> – отношение шансов с учетом всех факторов; CI 95 % – 95 % доверительный интервал для OR; P<sub>cor-FDR</sub> – значимость теста после коррекции FDR; лог-аддитивная модель на дозу редкого аллеля – увеличение дозы редкого аллеля в ряду: гомозигота по частому аллелю (0) – гетерозигота, (1) – гомозигота по редкому аллелю (2).

**Таблица 3.** Ассоциация полиморфных вариантов генов PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада и сиртуинов с показателями функции внешнего дыхания и индексом курения

Ген, локус	Генотипы	M ± SE	P	beta (CI 95 %)
<b>Жизненная емкость легких (ЖЕЛ)</b>				
<i>MTOR</i> rs2536 T>C	ТТ	53.76 (1.03)	0.013	0.00
	СТ	64.79 (4.02)		11.03 (2.38–19.67)
<i>PIK3R1</i> rs3730089 G>A	AA+GG	56.5 (1.31)	0.013	0.00
	AG	51.4 (1.51)		-5.10 (-9.09...-1.11)
<i>SIRT3</i> rs3782116 G>A	GG+AG	53.31 (1.1)	0.0015	0.00
	AA	62.59 (3.06)		9.28 (3.61–14.95)
<b>Форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ)</b>				
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	AA	56.06 (1.45)	0.017	0.00
	AG+GG	51.06 (1.51)		-5.00 (-9.10...-0.90)
	AA+GG	55.52 (1.39)		0.00
	AG	51.35 (1.59)	0.04	-4.17 (-8.31...-0.03)
<i>MTOR</i> rs2295080 T>G	ТТ+GG	57.42 (1.61)	0.025	0.00
	GT	52.09 (1.75)		-5.34 (-9.99...-0.68)
<i>PIK3R1</i> rs3730089 G>A	AA+AG	53.15 (1.13)	0.0026	0.00
	GG	61.18 (2.57)		8.03 (2.83–13.23)
<i>SIRT3</i> rs3782116 G>A	GG+AG	54.6 (1.2)	0.0028	0.00
	AA	63.95 (3.23)		9.36 (3.27–5.45)
	GG+AA	58.28 (1.5)		0.00
	AG	52.61 (1.73)		-5.67 (-10.24...-1.10)
<b>Индекс курения у курильщиков (пачки/лет)</b>				
<i>PIK3R1</i> rs10515070 T>A	ТТ+AA	31.61 (1.3)	0.025	0.00
	AT	31.00 (1.11)		-3.30 (-6.17...-0.42)
<i>PIK3R1</i> rs831125 A>G	AA+GG	30.85 (1.08)	0.0082	0.00
	AG	32.48 (1.61)		-4.37 (-7.60...-1.14)
<i>SIRT1</i> rs3818292 A>G	AA	32.00 (1.13)	0.036	0.00
	AG+GG	31.03 (1.25)		-3.04 (-5.88...-0.20)

Примечание. M ± SE – средние значения и стандартная ошибка среднего; P – уровень значимости для уравнения регрессии; beta (CI 95 %) – коэффициент регрессии и 95 % доверительный интервал для коэффициента.

доминантной ( $P_{adj} = 0.0035$ , OR = 1.52), рецессивной ( $P_{adj} = 0.028$ , OR = 1.44) и лог-аддитивной ( $P_{adj} = 0.0015$ , OR = 1.35) моделях. Ассоциация локуса rs2735343 с ХОБЛ установлена в доминантной модели ( $P_{adj} = 0.01$ , OR = 1.42) и для гетерозиготного генотипа ( $P_{adj} = 0.0001$ , OR = 1.64). Неравновесие по сцеплению между локусами rs701848 и rs2735343 гена *PTEN* не выявлено ( $D' = 0.234$ ,  $r^2 = 0.035$ ), анализ ассоциации гаплотипов гена *PTEN* не проводили.

#### Ассоциация исследованных полиморфных локусов с показателями функции внешнего дыхания и индексом курения

Снижение показателей функции внешнего дыхания является ключевой клинической характеристикой обструкции дыхательных путей при ХОБЛ и указывает на прогрессирование заболевания. Проведен анализ вариабельности количественных показателей функции внешнего дыхания: жизненной емкости легких, форсированной жизненной емкости легких и объема форсированного выдоха в 1 с в зависимости от полиморфных вариантов изученных генов (табл. 3). Снижение показателя ЖЕЛ было ассоциировано с гетерозиготным генотипом гена *PIK3R1* (rs3730089) ( $P = 0.013$ ), генотипом ТТ гена *MTOR*

(rs2536) ( $P = 0.013$ ). Значимое увеличение ЖЕЛ установлено для носителей генотипа АА гена *SIRT3* (rs3782116) ( $P = 0.0015$ ).

Высокие значения ФЖЕЛ наблюдались у носителей генотипов АА гена *SIRT1* (rs3818292) ( $P = 0.017$ ), GG гена *PIK3R1* (rs3730089) ( $P = 0.025$ ) и АА гена *SIRT3* (rs3782116) ( $P = 0.0028$ ). Тогда как для индивидов с гетерозиготными генотипами генов *SIRT1* (rs3818292) ( $P = 0.04$ ), *MTOR* (rs2295080) ( $P = 0.025$ ) и *SIRT3* (rs3782116) ( $P = 0.016$ ) отмечено снижение данного показателя (см. табл. 3). Увеличение индекса курения, характеризующего интенсивность и стаж курения (индекс курения, в пачках/лет), установлено у носителей гетерозиготного генотипа гена *PIK3R1* (rs831125) ( $P = 0.0082$ ) и генотипа АА гена *SIRT1* (rs3818292) ( $P = 0.036$ ).

#### Анализ ген-генных комбинаций

Проведен поиск информативных ген-генных комбинаций с использованием программы APSampler, идентифицированы сочетания аллелей и генотипов, ассоциированных с ХОБЛ. В анализ включали локус *SIRT2* (rs10410544), исследованный нами ранее (Korytina et al., 2019). Выявлено 2324 паттерна, ассоциированных с ХОБЛ. В табл. 4 пред-

**Таблица 4.** Ген-генные комбинации полиморфных локусов генов PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада и сиртуинов, значимо ассоциированные с развитием ХОБЛ

Комбинации	ХОБЛ (частота)	Контроль (частота)	<i>P</i>	<i>P</i> <sub>FDR</sub>	OR	CI (95 %)
<b>Рисковые</b>						
<i>PIK3R1</i> (rs831125) G + <i>SIRT3</i> (rs536715) GG	0.36	0.12	1.06e-14	2.45e-11	3.45	2.49–4.78
<i>PIK3R1</i> (rs831125) G + <i>MTOR</i> (rs2536) T	0.53	0.29	7.65e-13	1.77e-09	2.71	2.05–3.57
<i>PIK3R1</i> (rs831125) G + <i>PTEN</i> (rs2735343) C	0.39	0.17	7.7e-13	1.79e-09	3.06	2.23–4.18
<i>PIK3R1</i> (rs831125) GA + <i>SIRT3</i> (rs536715) G + <i>PTEN</i> (rs2735343) C	0.31	0.14	9.07e-10	2.10e-06	2.86	2.02–4.04
<i>SIRT3</i> (rs536715) GG + <i>PTEN</i> (rs2735343) CG	0.61	0.42	2.98e-09	6.92e-06	2.17	1.67–2.83
<i>PIK3R1</i> (rs3730089) G + <i>SIRT3</i> (rs536715) GG	0.46	0.29	1.14e-08	2.64e-05	2.09	1.62–2.72
<i>PIK3R1</i> (rs3730089) G + <i>SIRT6</i> (rs107251) CC	0.45	0.29	4.13e-08	9.60e-05	2.01	1.56–2.59
<i>PIK3R1</i> (rs10515070) A + <i>PTEN</i> (rs701848) C + <i>PTEN</i> (rs2735343) C	0.39	0.23	1.11e-06	0.0025	2.10	1.54–2.85
<b>Протективные</b>						
<i>PIK3R1</i> (rs831125) AA + <i>PIK3R1</i> (rs3730089) A	0.34	0.61	1.11e-16	2.58e-13	0.32	0.24–0.42
<i>PIK3R1</i> (rs831125) A + <i>PIK3R1</i> (rs3730089) A + <i>SIRT3</i> (rs3782116) A + <i>SIRT3</i> (rs536715) A	0.03	0.22	2.7e-15	6.27e-12	0.13	0.07–0.24
<i>PIK3R1</i> (rs831125) A + <i>SIRT3</i> (rs3782116) A + <i>SIRT3</i> (rs536715) A	0.06	0.25	1.07e-14	2.49e-11	0.18	0.11–0.29
<i>PIK3R1</i> (rs831125) A + <i>PIK3R1</i> (rs3730089) A + <i>SIRT3</i> (rs3782116) AG + <i>SIRT3</i> (rs536715) A	0.02	0.17	3.82e-14	8.87e-11	0.09	0.04–0.20
<i>PIK3R1</i> (rs3730089) A + <i>SIRT3</i> (rs3782116) A + <i>SIRT3</i> (rs536715) A	0.06	0.22	2.3e-13	5.36e-10	0.21	0.13–0.32
<i>SIRT3</i> (rs3782116) A + <i>SIRT3</i> (rs536715) A	0.08	0.26	6.52e-13	1.52e-09	0.25	0.17–0.38
<i>SIRT3</i> (rs3782116) AG + <i>SIRT3</i> (rs536715) GA	0.04	0.18	4.0e-11	9.29e-08	0.20	0.12–0.35
<i>SIRT3</i> (rs536715) A + <i>SIRT6</i> (rs107251) T	0.10	0.25	8.12e-11	1.89e-07	0.33	0.23–0.47
<i>SIRT3</i> (rs536715) A + <i>PTEN</i> (rs2735343) GG	0.06	0.18	4.73e-09	1.09e-05	0.27	0.17–0.44
<i>SIRT3</i> (rs536715) GA + <i>SIRT6</i> (rs107251) TC	0.06	0.17	9.75e-09	2.26e-05	0.30	0.19–0.47

Примечание. *P*-value – уровень значимости по тесту Фишера; *P*<sub>FDR</sub> – значимость теста после коррекции FDR; OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал для OR.

ставлены результаты наиболее значимых ген-генных сочетаний с *P*<sub>FDR</sub> менее 0.05 и OR более 2.0 для комбинаций риска или OR менее 0.35 – для протективных комбинаций. Всего было найдено 19 ген-генных комбинаций, которые соответствовали выбранному критерию, из них 9 ассоциировали с риском развития ХОБЛ, 10 были протективными. Большинство выявленных комбинаций риска включали аллель G или генотип GA гена *PIK3R1* (rs831125) (четыре информативных сочетания).

Наибольший риск развития ХОБЛ определялся сочетанием данных вариантов гена *PIK3R1* (rs831125) с генотипом GG гена *SIRT3* (rs536715) (OR = 3.45); аллеля C гена *PTEN* (rs2735343) (OR = 3.06) и их комбинацией – генотип GA гена *PIK3R1* (rs831125), аллель G гена *SIRT3* (rs536715) и аллель C гена *PTEN* (rs2735343) (OR = 2.86). Анализ ген-генных сочетаний исследованных полиморфных локусов позволил обнаружить ассоциацию аллеля T гена *MTOR* (rs2536), который проявлял свой эффект только в комбинации с аллелем G гена *PIK3R1* (rs831125) (OR = 2.71). Три из найденных комбинаций включали аллель G гена *PIK3R1* (rs3730089) в сочетании с генотипом GG гена *SIRT3* (rs536715) (OR = 2.09) либо с генотипом CC гена *SIRT6* (rs107251) (OR = 2.01).

Наиболее значимые комбинации, которые ассоциировали с пониженным риском развития ХОБЛ, включали аллель A или генотип AA гена *PIK3R1* (rs831125) и аллель A гена *PIK3R1* (rs3730089) в сочетании с аллелем A или генотипом AG гена *SIRT3* (rs3782116) и аллелем A локуса *SIRT3* (rs536715) (см. табл. 4). Таким образом, полиморфные локусы *PIK3R1* (rs831125), *PIK3R1* (rs3730089), *SIRT3* (rs536715) проявляли аллель-специфическое действие, когда аллель G гена *PIK3R1* (rs831125), аллель G гена *PIK3R1* (rs3730089) и аллель G и генотип GG гена *SIRT3* (rs536715) были частью комбинаций, предрасполагающей к развитию ХОБЛ, а альтернативные аллели этих же полиморфных локусов присутствовали в комбинациях, связанных со сниженным риском заболевания.

## Обсуждение

В результате проведенного исследования установлены значимые ассоциации полиморфных вариантов генов *SIRT1* (rs3818292), *SIRT3* (rs3782116, rs536715), *SIRT6* (rs107251) с развитием ХОБЛ. Белок SIRT1 является наиболее изученным членом семейства сиртуинов млекопитающих. Показано, что SIRT1 играет важную роль в сигнальных путях, вовлеченных в клеточное старение и гибель клеток

(Finkel et al., 2009). Он деацетилюет многие ключевые регуляторные белки и факторы транскрипции, участвующие в репарации ДНК, воспалении, экспрессии антиоксидантных генов и клеточном старении, включая гены PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути, транскрипционный фактор FOXO3a, белки p21, p16, Klotho (Cao et al., 2013).

Увеличение экспрессии SIRT1 ингибирует TGF- $\beta$ 1/SMAD3-сигнальный каскад и ослабляет эпителиально-мезенхимальную трансформацию, что приводит к снижению уровня ремоделирования дыхательных путей при ХОБЛ (Zhang et al., 2022). Уровень SIRT1 снижен в периферических легочных и циркулирующих мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с ХОБЛ (Rajendrasozhan et al., 2008).

Нами установлено, что риск развития ХОБЛ выше у гетерозиготных носителей локуса *SIRT1* (rs3818292). Более того, этот же полиморфный вариант был связан со снижением показателя ФЖЕЛ, отражающего прогрессирование заболевания. Функциональный анализ показал, что *SIRT1* (rs3818292) находится в сцеплении с полиморфным локусом в 5'-нетранслируемом регионе ДНК (rs3740051), изменяющим сайт связывания для транскрипционного фактора NF $\kappa$ B. Нами не выявлено ассоциации полиморфного локуса rs3758391 гена *SIRT1* с развитием ХОБЛ, что согласуется с данными, полученными для популяции китайцев Хань (Gao et al., 2018). По данным функционального анализа, rs3758391 находится в промоторной области гена *SIRT1*, вариант С нарушает сайты связывания для нескольких транскрипционных факторов и регуляторных белков, влияя на экспрессию гена. Известна роль rs3758391 в развитии целого комплекса возраст-ассоциированных заболеваний (Wu et al., 2022).

Митохондриальная дисфункция в эпителиальных клетках респираторных путей играет важную роль в патогенезе ХОБЛ (Zhang et al., 2022). Белок 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 (Wu et al., 2022).

Белок SIRT3 может напрямую контролировать продукцию активированных форм кислорода, деацетилируя марганцевую супероксиддисмутазу (SOD2), основной митохондриальный антиоксидантный фермент (Dikalova et al., 2017). Он участвует в регуляции работы фермента репарации ДНК OGG1, что приводит к увеличению повреждения мтДНК и апоптозу альвеолярных эпителиальных клеток (Sun et al., 2018). Ряд исследований показал вклад SIRT3 в развитие различных многофакторных заболеваний (Wu et al., 2022).

Нами изучена ассоциация двух функциональных полиморфизмов гена *SIRT3* (rs3782116 и rs536715) с ХОБЛ. Функциональный анализ продемонстрировал, что rs3782116 локализован в области сайтов связывания с миРНК hsa-miR-328; полиморфные локусы rs3782116 и rs536715 располагаются в регионах ДНК, связывающихся с регуляторными белками. Ассоциация с ХОБЛ в нашей выборке установлена для обоих полиморфных локусов; риск развития заболевания был связан с частыми аллелями G локусов rs3782116 и rs536715. Необходимо отметить,

что гомозиготные носители редкого аллеля А полиморфного локуса rs3782116 гена *SIRT3* имели более высокие показатели ЖЕЛ и ФЖЕЛ. Ранее исследования полиморфных локусов гена *SIRT3* при ХОБЛ не проводили, в то же время имеются данные по ассоциации полиморфных локусов гена *SIRT3* с заболеваниями, в патогенезе которых окислительный стресс и клеточное старение играют ключевую роль (Song et al., 2022).

Нами получены значимые ассоциации локуса *SIRT6* (rs107251) с развитием ХОБЛ; частый аллель С является маркером риска ХОБЛ, в то время как гетерозиготный генотип маркирует устойчивость к заболеванию. Исследованный нами полиморфный локус rs107251 расположен в регионе ДНК, связывающемся с регуляторным белком SOX8, и находится в тесном сцеплении с rs350846, локализованным в 3'-нетранслируемом регионе гена *SIRT6*, сайте связывания для нескольких миРНК (hsa-miR-1207-5p, hsa-miR-24, hsa-miR-34a, hsa-miR-644, hsa-miR-940). Белок SIRT6 участвует в регуляции стабильности генома, NF- $\kappa$ B сигналинга и гомеостаза глюкозы, проявляет активность АДФ-рибозилтрансферазы и гистондеацетилазы, играет роль в репарации ДНК и поддержании целостности теломерного хроматина (Kugel, Mostoslavsky, 2014). В работе (Takasaka et al., 2014) показано снижение уровня SIRT6 в эпителиальных клетках дыхательных путей пациентов с ХОБЛ, вызванное воздействием сигаретного дыма, что приводит к клеточному старению и нарушению процессов аутофагии. Ранее полиморфные локусы гена *SIRT6* при ХОБЛ не исследовали, однако имеются данные по ассоциации с сердечно-сосудистыми заболеваниями, которые часто являются коморбидной патологией при ХОБЛ (Song et al., 2022).

Ген *PIK3R1* кодирует регуляторную субъединицу 1 фосфоинозитид-3 киназы, ключевого элемента PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада (Ersahin et al., 2015). Нами исследованы три полиморфных локуса гена *PIK3R1*, rs10515070, rs831125, rs3730089, которые показали значимую ассоциацию с развитием ХОБЛ в нашей выборке. Носители редких аллелей данных полиморфных локусов имели высокий риск развития заболевания. Кроме того, нами обнаружена вариабельность показателей ЖЕЛ и ФЖЕЛ в зависимости от генотипов локуса rs3730089; так, у гетерозигот установлены более низкие показатели, что согласуется с результатами анализа ассоциации с развитием заболевания. Функциональный анализ показал, что интронный вариант rs831125 локализован в сайте связывания регуляторных белков; rs3730089 является миссенс-вариантом с «мягким» (benign) эффектом, согласно базе PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), находится в участке связывания с регуляторными белками и влияет на сайты сплайсинга. Исследований, посвященных анализу ассоциации гена *PIK3R1* с развитием ХОБЛ, ранее не проводилось. Имеются данные по ассоциации rs3730089 с сахарным диабетом 2-го типа (Karadoğan et al., 2018).

Фосфатаза PTEN регулирует активность фосфоинозитид-3 киназы (PI3K) (Worby, Dixon, 2014). Курение как основной фактор риска ХОБЛ провоцирует развитие окислительного стресса, который в свою очередь влияет на экспрессию PTEN (Cai et al., 2022). Нами исследованы



два функциональных полиморфных локуса гена *PTEN*; rs70184 локализован в 3'-области гена *PTEN* и изменяет сайты связывания для мРНК hsa-miR-1252 и hsa-miR-1304; rs2735343, находясь в интронной области, влияет на сайты связывания для нескольких регуляторных белков.

Значимые ассоциации с ХОБЛ в нашей выборке выявлены с локусами гена *PTEN*; так, у гомозиготных носителей редкого аллеля С локуса rs701848 и гетерозиготных носителей по локусу rs2735343 риск развития ХОБЛ был существенно выше.

Опубликованы данные по ассоциации локуса rs701848 гена *PTEN* с развитием ХОБЛ; риск был значительно снижен для гомозиготных носителей аллеля Т, что согласуется с данными, полученными для нашей выборки (Hosgood et al., 2009). *PTEN* участвует в регуляции различных биологических процессов, включая пролиферацию клеток, апоптоз, воспалительные реакции, транскрипцию и геномную стабильность (Cai et al., 2022). Снижение уровня *PTEN* приводит к активации PI3K-сигналинга и усилению клеточного старения при ХОБЛ (Barnes et al., 2019). Показано, что снижение активности *PTEN* при ХОБЛ увеличивает активность матриксной металлопротеазы MMP9 в клетках бронхиального эпителия, что в результате способствует прогрессированию воспаления и деградации внеклеточного матрикса (Vannitamby et al., 2017).

Проведение анализа ген-генных сочетаний позволило выявить наличие значительного синергизма между полиморфными локусами генов, кодирующих фосфоинозитид-3-киназу (PIK3R1) и митохондриальную деацетилазу (*SIRT3*), входящие в большинство значимых комбинаций, ассоциированных с повышенным риском развития ХОБЛ. Аллель С гена *PTEN* (rs2735343) был в составе четырех информативных комбинаций, ассоциированных с высоким риском хронической обструктивной болезни легких.

Полученные результаты полигенного анализа указывают на взаимодействие генов, кодирующих сиртуины *SIRT3*, *SIRT2*, *SIRT6* и *PI3KRI*, *PTEN*, *MTOR*, и находят подтверждение в функциональной взаимосвязи сиртуинов и PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада.

## Заключение

В результате проведенного исследования впервые в нашей работе показаны значимая ассоциация генов *SIRT3* (rs3782116, rs536715), *SIRT6* (rs107251) и *PIK3R1* (rs10515070, rs831125, rs3730089) с ХОБЛ и наличие межгенных взаимодействий генов, кодирующих ключевые компоненты PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада, и сиртуинов. Это подтверждает предположение о существенной роли механизмов клеточного старения в формировании предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких.

## Список литературы / References

Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Белевский А.С., Лещенко И.В., Овчаренко С.И., Шмелев Е.И. Хроническая обструктивная болезнь легких: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению. *Пульмонология*. 2022;32(3):356-392. DOI 10.18093/0869-0189-2022-32-3-356-392.

- [Chuchalin A.G., Avdeev S.N., Aisanov Z.R., Belevskiy A.S., Leshchenko I.V., Ovcharenko S.I., Shmelev E.I. Federal guidelines on diagnosis and treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Pul'monologiya = Pulmonology*. 2022;32(3):356-392. DOI 10.18093/0869-0189-2022-32-3-356-392. (in Russian)]
- 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;200(5):556-564. DOI 10.1164/rccm.201810-1975TR.
- Cai B., Yang L., Do Jung Y., Zhang Y., Liu X., Zhao P., Li J. *PTEN*: An emerging potential target for therapeutic intervention in respiratory diseases. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2022;2022:4512503. DOI 10.1155/2022/4512503.
- Cao L., Liu C., Wang F., Wang H. *SIRT1* negatively regulates amyloid-beta-induced inflammation via the NF- $\kappa$ B pathway. *Braz. J. Med. Biol. Res*. 2013;46(8):659-669. DOI 10.1590/1414-431X20132903.
- Dikalova A.E., Itani H.A., Nazarewicz R.R., McMaster W.G., Flynn C.R., Uzhachenko R., Fessel J.P., Gamboa J.L., Harrison D.G., Dikalov S.I. *Sirt3* impairment and *SOD2* hyperacetylation in vascular oxidative stress and hypertension. *Circ. Res*. 2017;121(5):564-574. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.117.310933.
- Ersahin T., Tuncbag N., Cetin-Atalay R. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway. *Mol. Biosyst*. 2015;11(7):1946-1954. DOI 10.1039/c5mb00101c.
- Finkel T., Deng C.X., Mostoslavsky R. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins. *Nature*. 2009;460(7255):587-591. DOI 10.1038/nature08197.
- Gao S.L., Wang Y.H., Li C.Y., Yang L.W., Zou B.A., Chen Z.G., Yao W.M., Song Z.Q., Cheng J.F., Lin Z.Y., Liu G. A highly significant association between Cathepsin S gene polymorphisms rs12068264 and chronic obstructive pulmonary disease susceptibility in Han Chinese population. *Biosci. Rep*. 2018;38(4):BSR20180410. DOI 10.1042/BSR20180410.
- Hosgood H.D., Menashe I., He X., Chanock S., Lan Q. *PTEN* identified as important risk factor of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med*. 2009;103(12):1866-1870. DOI 10.1016/j.rmed.2009.06.016.
- Ito K., Barnes P.J. COPD as a disease of accelerated lung aging. *Chest*. 2009;135(1):173-180. DOI 10.1378/chest.08-1419.
- Karadoğan A.H., Arikoglu H., Göktürk F., İşçiöglu F., İpekçi S.H. *PIK3R1* gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes and related features in the Turkish population. *Adv. Clin. Exp. Med*. 2018;27(7):921-927. DOI 10.17219/acem/68985.
- Kirkham P.A., Barnes P.J. Oxidative stress in COPD. *Chest*. 2013;144(1):266-273. DOI 10.1378/chest.12-2664.
- Korytina G.F., Akhmadishina L.Z., Aznabaeva Y.G., Kochetova O.V., Zagidullin N.S., Kzhyshkowska J.G., Zagidullin S.Z., Viktorova T.V. Associations of the NRF2/KEAP1 pathway and antioxidant defense gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease. *Gene*. 2019;692:102-112. DOI 10.1016/j.gene.2018.12.061.
- Kugel S., Mostoslavsky R. Chromatin and beyond: the multitasking roles for *SIRT6*. *Trends Biochem. Sci*. 2014;39(2):72-81. DOI 10.1016/j.tibs.2013.12.002.
- Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I., Daly M.J., Sham P.C. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet*. 2007;81(3):559-575. DOI 10.1086/519795.
- Ragland M.F., Benway C.J., Lutz S.M., Bowler R.P., Hecker J., Hokanson J.E., Crapo J.D., Castaldi P.J., DeMeo D.L., Hersh C.P., Hobbs B.D., Lange C., Beaty T.H., Cho M.H., Silverman E.K. Genetic advances in chronic obstructive pulmonary disease. Insights from COPDGene. *Am J. Respir. Crit. Care Med*. 2019;200(6):677-690. DOI 10.1164/rccm.201808-1455SO.
- Rajendrasozhan S., Yang S.R., Kinnula V.L., Rahman I. *SIRT1*, an anti-inflammatory and antiaging protein, is decreased in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2008;177(8):861-870. DOI 10.1164/rccm.200708-1269OC.

- Ryter S.W., Rosas I.O., Owen C.A., Martinez F.J., Choi M.E., Lee C.G., Elias J.A., Choi A.M.K. Mitochondrial dysfunction as a pathogenic mediator of chronic obstructive pulmonary disease and idiopathic pulmonary fibrosis. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2018;15(Suppl. 4):S266-S272. DOI 10.1513/AnnalsATS.201808-585MG.
- Song X., Wang H., Wang C., Ji G., Jiang P., Liang D., Wang X. Association of sirtuin gene polymorphisms with susceptibility to coronary artery disease in a North Chinese population. *Biomed. Res. Int.* 2022;2022:4294008. DOI 10.1155/2022/4294008.
- Sun W., Liu C., Chen Q., Liu N., Yan Y., Liu B. SIRT3: A new regulator of cardiovascular diseases. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2018;2018:7293861. DOI 10.1155/2018/7293861.
- Takasaka N., Araya J., Hara H., Ito S., Kobayashi K., Kurita Y., Wakui H., Yoshii Y., Yumino Y., Fujii S., Minagawa S., Tsurushige C., Kojima J., Numata T., Shimizu K., Kawaishi M., Kaneko Y., Kamiya N., Hirano J., Odaka M., Morikawa T., Nishimura S.L., Nakayama K., Kuwano K. Autophagy induction by SIRT6 through attenuation of insulin-like growth factor signaling is involved in the regulation of human bronchial epithelial cell senescence. *J. Immunol.* 2014;192(3):958-968. DOI 10.4049/jimmunol.1302341.
- Vannitamby A., Seow H.J., Anderson G., Vlahos R., Thompson M., Steinfert D., Irving L.B., Bozinovski S. Tumour-associated neutrophils and loss of epithelial PTEN can promote corticosteroid-insensitive MMP-9 expression in the chronically inflamed lung microenvironment. *Thorax.* 2017;72(12):1140-1143. DOI 10.1136/thoraxjnl-2016-209389.
- Wang C.H., Wu S.B., Wu Y.T., Wei Y.H. Oxidative stress response elicited by mitochondrial dysfunction: implication in the pathophysiology of aging. *Exp. Biol. Med.* 2013;238(5):450-460. DOI 10.1177/1535370213493069.
- Ward L.D., Kellis M. HaploReg v4: systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D877-D881. DOI 10.1093/nar/gkv1340.
- Worby C.A., Dixon J.E. PTEN. *Annu. Rev. Biochem.* 2014;83:641-669. DOI 10.1146/annurev-biochem-082411-113907.
- Wu Q.J., Zhang T.N., Chen H.H., Yu X.F., Lv J.L., Liu Y.Y., Liu Y.S., Zheng G., Zhao J.Q., Wei Y.F., Guo J.Y., Liu F.H., Chang Q., Zhang Y.X., Liu C.G., Zhao Y.H. The sirtuin family in health and disease. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2022;7(1):402. DOI 10.1038/s41392-022-01257-8.
- Zhang X.Y., Li W., Zhang J.R., Li C.Y., Zhang J., Lv X.J. Roles of sirtuin family members in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Res.* 2022; 23(1):66. DOI 10.1186/s12931-022-01986-y.

#### ORCID ID

G.F. Korytina orcid.org/0000-0002-1695-5173  
L.Z. Akhmadishina orcid.org/0000-0003-0043-5090  
V.A. Markelov orcid.org/0000-0002-0663-7219  
Y.G. Aznabaeva orcid.org/0000-0002-1518-774X  
O.V. Kochetova orcid.org/0000-0002-2944-4428

T.R. Nasibullin orcid.org/0000-0001-8823-8678  
A.P. Larkina orcid.org/0009-0003-0710-6705  
N.N. Khusnutdinova orcid.org/0000-0003-4127-078X  
N.Sh. Zagidullin orcid.org/0000-0003-2386-6707  
T.V. Victorova orcid.org/0000-0001-8900-2480

**Благодарности.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00019 (<https://rscf.ru/project/23-25-00019/>) с использованием оборудования ЦКП «Биомика» и комплекса оборудования для исследования нуклеиновых кислот «КОДИНК» (УНУ «КОДИНК») (ИБГ УФИЦ РАН).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 20.03.2023. После доработки 19.04.2023. Принята к публикации 19.04.2023.