

## АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА rs1799998, с.–344Т>С ГЕНА АЛЬДОСТЕРОНСИНТАЗЫ (CYP11B2) С РАЗВИТИЕМ САРКОИДОЗА ЛЕГКИХ

© 2021 г. И. Е. Малышева<sup>1</sup>\*, Л. В. Топчиева<sup>1</sup>, Э. Л. Тихонович<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр  
Российской академии наук”, Петрозаводск, 185910 Россия

<sup>2</sup>Республиканская больница им. В.А. Баранова, Петрозаводск, 185019 Россия

\*e-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.05.2020 г.

После доработки 31.07.2020 г.

Принята к публикации 25.08.2020 г.

Саркоидоз легких относится к иммуновоспалительным заболеваниям. Альдостерон способен активировать клетки врожденного иммунитета, его уровень зависит от активности альдостеронсинтазы (CYP11B2). Роль гена CYP11B2 в этиологии и патогенезе саркоидоза легких не изучена. В настоящей статье изучены ассоциация полиморфизма (rs1799998, с.–344Т>С) гена CYP11B2 с развитием саркоидоза легких и оценка взаимосвязи полиморфных вариантов гена CYP11B2 с биохимическими показателями плазмы крови (CRP, VCAM1, IL1, IL6, TNF). В исследование включено 255 человек (119 пациентов с диагнозом “саркоидоз легких” и 136 здоровых доноров), проживающих в Республике Карелия. Анализ локуса rs1799998 гена CYP11B2 в указанных группах проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). Содержание CRP, VCAM1, IL1, IL6, TNF в плазме крови здоровых людей определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Установлено, что в группе больных саркоидозом легких частота генотипа TT по rs1799998 гена CYP11B2 значимо выше, чем в группе здоровых людей ( $\chi^2 = 4.05$ ;  $p = 0.045$ ). Выявлено повышение риска развития саркоидоза легких у носителей аллеля T (OR = 1.60; 95% CI: 1.102–2.221) и генотипа TT (OR = 2.16; 95% CI: 1.181–3.947). Содержание VCAM1 в плазме крови здоровых доноров достоверно выше у лиц с генотипом TT по сравнению с носителями альтернативных генотипов (1465.91 и 967.05 нг/мл соответственно;  $p = 0.002$ ).

**Ключевые слова:** саркоидоз легких, ген альдостеронсинтазы, легочная гипертензия, VCAM1.

**DOI:** 10.31857/S001667582104007X

Саркоидоз относится к системным иммуновоспалительным заболеваниям с неустановленной этиологией. Образование эпителиоидно-клеточных гранулём в различных органах и тканях (преимущественно в легких, до 90% случаев) – характерная особенность патологии [1]. Одним из частых осложнений данного заболевания является развитие легочной гипертензии, которая, по мнению ряда авторов, возникает у 5–74% больных [2, 3]. Развивающиеся вследствие этого функциональные нарушения – неблагоприятный прогностический фактор, связанный со значительным увеличением (в 8–10 раз) смертности больных [2]. Распространенность саркоидоза в Российской Федерации колеблется от 22 до 47 чел. на 100 тыс. населения. В последние десятилетия наблюдается неуклонный рост заболеваемости саркоидозом. Распространенность в Республике Карелия составляет 73 чел. на 100 тыс. населения, больше чем в среднем по стране [4, 5].

В настоящее время этиопатогенез саркоидоза трактуется как генетически обусловленная гиперактивность иммунной системы, которая приводит к гранулематозному воспалению посредством реакции гиперчувствительности замедленного типа в результате воздействия неизвестного причинного фактора [6]. Патогенез саркоидоза характеризуется активацией клеток врожденного и адаптивного иммунитета. В связи с этим считается, что восприимчивость людей к данному заболеванию может определяться носительством аллельных вариантов генов, кодирующих самые различные белки, являющиеся компонентами иммунной системы [7]. Среди генов, продукты которых участвуют в регуляции иммунного ответа при саркоидозе легких, называются гены Toll-подобных поверхностных рецепторов, внутриклеточных NOD-подобных рецепторов, гены, кодирующие провоспалительные цитокины, например TNF и др. Широко исследуется роль генов основного комплекса ги-

**Таблица 1.** Клиническая характеристика группы пациентов

Признак	Число пациентов (N = 119) n (%)
Мужчины	35 (29.41)
Женщины	84 (70.59)
Стадия 1	14 (11.76)
Стадия 2	95 (79.83)
Стадия 3	9 (7.56)
Стадия 4	1 (0.84)
Генерализованный саркоидоз	3 (2.52)
Пациенты с рецидивирующим течением саркоидоза	25 (21.01)
<b>Функция внешнего дыхания</b>	
Нормальная	109 (91.60)
Обструктивные нарушения	3 (2.52)
Рестриктивные нарушения	7 (5.88)
Нарушения диффузионной способности легких	12 (10.08)

Примечание. Классификация саркоидоза по K. Wurm (1958 г.).

стосовместимости в повышении риска развития данного заболевания и тяжести его течения. В стимулировании клеток иммунной системы играют роль компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Так, повышенная экспрессия ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) способствует увеличению уровня АФК и транскрипционного фактора с/ЕВРβ в макрофагах, что приводит к усилению продукции TNFα и снижению экспрессии нескольких маркеров M2 макрофагов [8]. Таким образом, изменение уровня АПФ может быть причиной переключения дифференцировки макрофагов с фенотипа M1 (активно вырабатывающих провоспалительные цитокины и цитотоксические молекулы) на фенотип M2 с высокой фагоцитарной активностью [9].

Показано, что в крови больных саркоидозом значимо повышен уровень ангиотензин-превращающего фермента [10, 11]. Кроме того, образующийся при участии АПФ вазоконстриктор ангиотензин II также обладает провоспалительным эффектом [12]. Этот эффект ангиотензина II опосредован через активацию фактора транскрипции NF-κB и последующей продукцией каскада медиаторов воспаления [13].

Другим, не менее значимым компонентом РААС, который может быть медиатором воспаления, является альдостерон, основной регулятор синтеза и секреции которого – ангиотензин II. Данный гормон обуславливает накопление в организме натрия и способствует возрастанию объ-

ема циркулирующей крови (ОЦК), что приводит к повышению артериального давления и увеличению вывода калия из организма [14]. Ключевой фермент синтеза альдостерона – альдостеронсинтаза, кодируемая геном цитохрома P450 11b2 (*CYP11B2*). Установлено, что некоторые мутации в гене *CYP11B2* могут приводить к изменению уровня экспрессии гена и активности альдостеронсинтазы [15, 16]. В работе White и соавт. [17] показано, что однонуклеотидная замена цитозина на тимин в положении –344 промоторной области гена *CYP11B2* (rs1799998, с.–344Т>С) изменяет эффективность связывания стероидогенного транскрипционного фактора (SF-1), что отражается на экспрессии гена *CYP11B2*.

Опубликованные данные по ассоциации полиморфных локусов гена *CYP11B2* с развитием патологического процесса при саркоидозе легких на сегодняшний день отсутствуют.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении ассоциации полиморфизма (rs1799998, с.–344Т>С) гена *CYP11B2* с развитием саркоидоза легких у больных, проживающих в Республике Карелия, и оценки взаимосвязи полиморфных вариантов гена *CYP11B2* с биохимическими показателями плазмы крови (CRP, VCAM1, IL1, IL6, TNF).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 255 человек (119 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом саркоидоза легких (средний возраст  $44.25 \pm 1.16$  года) и 136 здоровых доноров (контроль), средний возраст  $43.78 \pm 1.24$  года), проживающих на территории Республики Карелия. Группы больных и контроля, включенные в исследование, были смешанными по этническому составу.

Материалом для исследований служили образцы периферической крови, полученные при содействии Отделения интенсивной респираторной терапии Республиканской больницы им. В.А. Баранова Республики Карелия. Характеристика больных представлена в табл. 1. Информационное согласие было получено от всех пациентов. Работа одобрена локальным этическим комитетом ГБУЗ “Республиканская больница им. В.А. Баранова”, протокол № 96 от 11.07.2017.

Диагноз саркоидоза легких устанавливался на основании клинико-рентгенологических и лабораторных изменений, соответствовал международным критериям выявления этого гранулематоза [18]. У всех пациентов (100%) саркоидоз был верифицирован гистологически на основании исследования биоптата. Для морфологической верификации диагноза саркоидоза использовались следующие методы диагностики: видеоторакоскопия – 50% случаев, трансбронхиальная биопсия – 43%, открытая биопсия легких – 3%,

биопсия другого органа (кожа, периферический лимфатический узел) – 4%.

Критерии исключения из исследования: наличие сахарного диабета, выраженные нарушения функции внутренних органов, а также перенесенные в последний месяц инфекционные заболевания, курение табака, беременность и лактация, алкогольная зависимость, индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м. Пациенты, включенные в настоящее исследование, не принимали каких-либо лекарственных препаратов (в том числе гормональных) и находились в состоянии ремиссии.

Геномную ДНК из цельной крови выделяли с помощью набора Analytik jena (Германия). Генотипирование полиморфного локуса rs1799998, с.–344Т>С гена *CYP11B2* осуществляли методом ПЦР-ПДРФ. ПЦР проводили на приборе Махугене (США). Для амплификации использовали набор ScreenMix-HS (набор включал: высокопроцессивную Taq ДНК-полимеразу со специфическими моноклональными антителами, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов,  $Mg^{2+}$ , ПЦР-буфер, красители) и праймеры производства фирмы “Евроген” (Россия). Последовательность праймеров представлена в работе [19]. ПЦР-продукты обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *HaeIII* (1 е.а.) (“Сиб-энзим”, Россия) в течение 4 ч при 37°C, согласно инструкции к набору. После рестрикции фрагменты ДНК разделяли в 6%-ном полиакриламидном геле (ПААГ), использовали трис-ацетатный буфер, окрашивали 1%-ным раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем УФ свете.

Для оценки взаимосвязи генотипов полиморфного локуса rs1799998, с.–344Т>С гена *CYP11B2* с биохимическими показателями использовали периферическую кровь здоровых людей с целью исключить влияние на них терапии и воспалительного процесса (28 человек, ср. возраст  $44.15 \pm 2.70$  года). Забор крови для иммуноферментного анализа проводился натощак. В работе использованы наборы для иммуноферментного анализа (ИФА) фирмы “Biomerica”, США (для определения CRP, VCAM1), “Invitrogen”, США (для определения уровня цитокинов IL1, IL6, TNF). Содержание указанных белков определяли в плазме после центрифугирования (15 мин при 1200 об./мин) цельной крови согласно инструкциям к наборам. Оптическую плотность растворов определяли при длине волны 450 нм на микропланшетном ридере Tecan Sunrise (Tecan, Швейцария).

Для статистической обработки результатов исследования использовали пакет программ Statgraphics Centurion XV и MS Excel. С помощью критерия  $\chi^2$  оценивали достоверность различий частот аллелей и генотипов в исследуемых группах. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Для оценки риска развития саркоидоза легких рассчитывали отношение шансов (OR) с

95%-ным доверительным интервалом (95% CI). Различия считались значимыми при  $p < 0.05$ .

Для анализа достоверности различий содержания белков в плазме крови между группами был использован непараметрический критерий *U* Вилкоксона–Манна–Уитни. Для оценки влияния генотипа на биохимические показатели плазмы крови использовали дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллису (*H*). Данные по содержанию белков в плазме крови представлены в виде медианы. Возраст обследованных представлен в виде среднего и ошибки среднего. Для оценки взаимосвязи генотипов полиморфного локуса rs1799998, с.–344Т>С с биохимическими показателями использован дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение генотипов по полиморфному локусу rs1799998, с.–344Т>С гена *CYP11B2* соответствовало равновесию Харди–Вайнберга в группе больных ( $\chi^2 = 0.04$ ;  $p = 0.980$ ) и в контрольной группе ( $\chi^2 = 1.86$ ;  $p = 0.395$ ).

При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов по локусу rs1799998 гена *CYP11B2* установлено статистически значимое увеличение частоты аллеля *T* ( $\chi^2 = 6.31$ ;  $p = 0.013$ ) и генотипа *TT* в группе больных саркоидозом легких по сравнению с контрольной группой ( $\chi^2 = 4.05$ ;  $p = 0.045$ ) (табл. 2).

Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов (OR) у носителей *T*-аллеля риск развития саркоидоза легких повышен в 1.60 раза по сравнению с индивидами, имеющими в генотипе аллель *C* по rs1799998 гена *CYP11B2*: [OR = 1.60; 95% CI: 1.102–2.221]. Установлено, что у носителей генотипа *TT* по полиморфному локусу rs1799998 гена *CYP11B2* риск развития саркоидоза легких повышен в 2.16 раза по сравнению с носителями *CC* и *CT* генотипов: [OR = 2.16; 95% CI: 1.181–3.947].

Изучено содержание белков (CRP, VCAM1, IL1, IL6, TNF) в плазме крови здоровых людей, носителей разных генотипов по полиморфному локусу rs1799998, с.–344Т>С гена *CYP11B2* (табл. 3).

По результатам иммуноферментного анализа содержание молекул адгезии VCAM1 в плазме крови здоровых доноров достоверно выше у носителей генотипа *TT*, по сравнению с носителями других генотипов ( $U = 21.0$ ;  $p = 0.002$ ) (табл. 3). Дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллису выявил значимую взаимосвязь между уровнем

**Таблица 2.** Распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs1799998 гена *CYP11B2* в группе больных саркоидозом легких и в контрольной группе

Генотип/Аллель	Контрольная группа ( <i>N</i> = 136) <i>n</i> (%)	Больные саркоидозом легких ( <i>N</i> = 119) <i>n</i> (%)	Критерий $\chi^2$
<i>CC</i>	42 (30.9)	26 (21.8)	7.136 ( <i>d.f.</i> = 2, <i>p</i> = 0.029)
<i>CT</i>	72 (52.9)	58 (48.8)	
<i>TT</i>	22 (16.2)	35 (29.4)	
<i>C</i>	156 (57.4)	110 (46.2)	6.31 ( <i>d.f.</i> = 1, <i>p</i> = 0.013)
<i>T</i>	116 (42.6)	128 (53.8)	

Примечание.  $\chi^2$  – критерий хи-квадрат Пирсона; *d.f.* – число степеней свободы; *p* – уровень значимости.

**Таблица 3.** Биохимические показатели плазмы крови здоровых людей, носителей аллельных вариаций гена *CYP11B2* (с.–344Т>С)

Показатель	Генотип		<i>p</i>
	индивиды с генотипом <i>TT</i> ( <i>n</i> = 10), Ме	индивиды с генотипами <i>TC</i> + <i>CC</i> ( <i>n</i> = 18), Ме	
CRP, мг/мл	0.99 (0.76; 1.56)	1.35 (0.94; 1.67)	0.23
IL1 $\beta$ , пг/мл	4.95 (4.19; 5.52)	4.95 (4.19; 6.09)	0.72
IL6, пг/мл	3.78 (3.35; 4.00)	4.16 (3.26; 5.33)	0.39
VCAM1, нг/мл	1465.91 (1265.91; 1625.00)	967.05 (809.09; 1111.36)	0.002
TNF $\alpha$ , пг/мл	8.00 (6.67; 9.67)	7.33 (6.67; 7.83)	0.30

Примечание. Ме – медиана и интерквартильный диапазон (Ме (25%; 75%)); *p* – уровень значимости для критерия *U* Вилкоксона–Манна–Уитни.

VCAM1 и полиморфными вариантами гена *CYP11B2* (*H* = 4.91; *p* = 0.027).

### ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе исследована ассоциация полиморфного локуса rs1799998, с.–344Т>С гена *CYP11B2* с риском развития саркоидоза легких у жителей Республики Карелия. Данная мутация в регуляторной области гена *CYP11B2* ассоциирована с изменением уровня альдостерона в плазме крови, как отмечено ранее [15, 16]. Установлено, что повышенный уровень альдостерона усиливает воспалительный процесс, что может привести, например, к ремоделированию кровеносных сосудов, гипертрофии сердца, тубулоинтерстициальному фиброзу и повреждению клубочков в почках [20]. В настоящем исследовании нами изучен вклад полиморфизма rs1799998, с.–344Т>С гена *CYP11B2* в патогенез саркоидоза легких, заболевания, связанного с развитием воспаления.

Аллельный полиморфизм генов, кодирующих компоненты РААС, например гена АПФ, играет значимую роль в патогенезе саркоидоза, что, в свою очередь, может оказывать влияние на клиническое течение заболевания [21]. Так, по данным метаанализа показана связь между риском развития саркоидоза и носительством *D*-аллеля I/D-полиморфного маркера гена АПФ (rs1799752) [22]. Наличие *D*-аллеля связано с более высокой активностью циркулирующего и тканевого АПФ [23].

В качестве провоспалительного фактора при развитии и прогрессировании гранулематозного воспаления при саркоидозе легких может выступать, по-видимому, также гормон альдостерон (другой компонент РААС), уровень которого может зависеть от ряда факторов, в том числе и генетического полиморфизма [17]. Ключевым ферментом, участвующим в синтезе гормона альдостерона, является альдостеронсинтаза, кодируемая геном *CYP11B2*. Данный фермент относится к суперсе-

мейству цитохрома P450 и катализирует последнюю стадию синтеза альдостерона из дезоксикортикостерона [24]. Известно, что полиморфные локусы в промоторной или в 3'-нетранслируемой области гена *CYP11B2* могут оказывать влияние на уровень его экспрессии и активность образуемого белка [25]. К таким полиморфным локусам относится однонуклеотидная замена rs1799998, с.-344Т>С в промоторной области гена. В проведенном нами исследовании выявлена ассоциация полиморфизма rs1799998, с.-344Т>С гена *CYP11B2* с риском развития саркоидоза легких. У носителей аллеля Т и генотипа ТТ риск развития данного заболевания повышен в 1.60 и в 2.16 раза соответственно. По данным литературы, с.-344Т>С гена *CYP11B2* оказывает влияние на степень связывания с транскрипционным фактором SF-1, который является регулятором экспрессии гена альдостеронсинтазы и синтеза альдостерона [17]. Так, наличие С в положении с.-344 промотора гена *CYP11B2* позволяет более эффективно связывать транскрипционный фактор SF-1, по сравнению с Т в данном положении, увеличивая тем самым экспрессию гена более чем в 4 раза [26].

Изменения содержания и активности альдостеронсинтазы, обусловленные наличием мутаций в разных областях гена *CYP11B2*, могут быть связаны с вариабельностью уровня альдостерона в крови [27, 28]. Потенциальная роль альдостерона как посредника клеточных и молекулярных изменений при развитии гранулематозного воспаления при саркоидозе легких может быть обусловлена его влиянием на процессы локального воспаления, наблюдаемые в саркоидной гранулёме. В ряде исследований показано, что альдостерон способствует развитию воспалительных реакций в различных тканях [29, 30]. При связывании альдостерона с минералокортикоидными рецепторами (МР) (которые экспрессируются также на поверхности мононуклеарных лейкоцитов) происходит активация МР с последующей транслокацией гормон-рецепторного комплекса в ядро клетки, где он связывается с HRE (hormone response elements) и модулирует экспрессию генов [31]. В пользу специфичности связывания МР с альдостероном свидетельствует более высокая стабильность образуемого комплекса альдостерон-МР по сравнению с комплексом кортизол-МР [32]. Важная роль альдостерона в патогенезе саркоидоза легких, а также провоспалительный эффект, который данный гормон оказывает на процессы локального воспаления, заключаются, по видимому, в активации NF-κB-пути. Активация фактора транскрипции NF-κB (ядерный фактор "каппа-би"; Nuclear Factor kappa B) приводит к повышенному синтезу разнообразных медиаторов воспаления, таких как цитокины, хемокины и др. [33]. Кроме того, альдостерон МР-зависимым образом индуцирует фосфорилирование регулиру-

емой сыворотки/глюкокортикоид-индуцируемой киназы 1 (SGK1; serum/glucocorticoid regulated kinase 1), транскрипция которой контролируется широким спектром гормонов и регуляторов. SGK1, в свою очередь, вовлечена в многочисленные внутриклеточные сигнальные пути, в том числе в регуляцию процессов воспаления и модулирования воспалительного фенотипа моноцитов и макрофагов в самой гранулёме [34].

Учитывая вовлеченность альдостеронсинтазы и альдостерона в формирование системного воспаления, мы предположили, что носительство вариантов гена *CYP11B2* может обуславливать вариабельность содержания белков, связанных с развитием воспалительных реакций, например уровня цитокинов. Согласно результатам нашего исследования у носителей различных генотипов по полиморфному локусу rs1799998, с.-344Т>С гена *CYP11B2* не выявлено различий в содержании провоспалительных цитокинов и С-реактивного белка. Тем не менее обнаружена взаимосвязь содержания растворимой формы VCAM1 с полиморфными вариантами гена *CYP11B2*. Так, у носителей генотипа ТТ гена *CYP11B2* этот показатель в плазме крови был значимо выше.

Известно, что уровень VCAM1 в плазме повышается при активации воспалительных процессов в организме и служит в качестве чувствительного маркера эндотелиальной дисфункции, которая является одним из звеньев патологического процесса легочной гипертензии и саркоидоза легких.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о значимой ассоциации полиморфного локуса rs1799998, с.-344Т>С гена *CYP11B2* с развитием саркоидоза легких. Учитывая малочисленность выборки и ее смешанный этнический состав, необходимы проведение дальнейших исследований на расширенной выборке и репликация результатов в других этнических группах и популяциях. Необходимо проведение функциональных исследований для определения роли гена *CYP11B2* в развитии и прогрессировании патологического процесса при саркоидозе.

Таким образом, генетический фон может определять не только восприимчивость людей к возникновению саркоидоза с поражением легких, но и клинические характеристики протекания данного заболевания. В связи с этим важное значение имеют попытки найти аллельные вариации, которые могли бы выступать в качестве прогностических маркеров предрасположенности населения к данному заболеванию и характеризовали бы особенности его протекания у пациентов.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карель-

ского научного центра Российской академии наук (тема № 0218-2019-0077).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национально-го комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Judson M.A. The clinical features of sarcoidosis: A comprehensive review // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2015. V. 49. № 1. P. 63–78. <https://doi.org/10.1007/s12016-014-8450-y>
2. Авдеев С.Н. Легочная гипертензия при саркоидозе // *Пульмонология.* 2016. Т. 26. № 6. С. 725–735.
3. Boucly A., Cottin V., Nunes H. et al. Management and long-term outcomes of sarcoidosis-associated pulmonary hypertension // *Eur. Respir. J.* 2017. V. 50. № 4. pii: 1700465. <https://doi.org/10.1183/13993003.00465-2017>
4. Визель А.А., Визель И.Ю., Амиров Н.Б. Эпидемиология саркоидоза в Российской Федерации // *Вестник соврем. клин. мед.* 2017. Т. 10. № 5. С. 66–73.
5. Тихонович Э.Л., Везикова Н.Н., Маркелова О.А., Малышева И.Е. Эпидемиология, особенности клиники, диагностики и лечения саркоидоза в Карелии // *Уч. зап. Петрозаводского гос. ун-та.* 2015. № 6(151). С. 67–71.
6. Johns C.J., Michele T.M. The clinical management of sarcoidosis. A 50-year experience at the Johns Hopkins Hospital // *Medicine (Baltimore).* 1999. V. 78. № 2. P. 65–111. <https://doi.org/10.1097/00005792-199903000-00001>
7. Малышева И.Е., Топчиева Л.В., Тихонович Э.Л. Роль полиморфизма генов в чувствительности к саркоидозу легких // *Пульмонология.* 2019. Т. 29. № 5. С. 596–603. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2019-29-5-596-603>
8. Khan Z., Cao D.Y., Giani J.F. et al. Overexpression of the C-domain of angiotensin-converting enzyme reduces melanoma growth by stimulating M1 macrophage polarization // *J. Biol. Chem.* 2019. V. 294. № 12. P. 4368–4380. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006275>
9. Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев И.Ю. M1 и M2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии // *Патогенез.* 2008. Т. 6. № 4. С. 31–39.
10. Lieberman J. Elevation of serum angiotensin-converting-enzyme (ACE) level in sarcoidosis // *Am. J. Med.* 1975. V. 59. № 3. P. 365–372. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(75\)90395-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(75)90395-2)
11. Lynch J.P., Kazerooni E.A., Gay S.E. Pulmonary sarcoidosis // *Clin. Chest Med.* 1997. V. 18. № 4. P. 755–785. [https://doi.org/10.1016/s0272-5231\(05\)70417-2](https://doi.org/10.1016/s0272-5231(05)70417-2)
12. Li Y. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and essential hypertension in the Chinese population: A meta-analysis including 21,058 participants // *Intern. Med. J.* 2012. V. 42. № 4. P. 439–444. <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2011.02584.x>
13. Kranzhofer R., Kranzhöfer R., Browatzki M. et al. Angiotensin II activates the proinflammatory transcription factor nuclear factor kappa B in human monocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999. V. 257. P. 826–828. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0543>
14. Барышникова Г.А., Аверин Е.Е. Альдостерон при артериальной гипертензии: новые терапевтические возможности // *CONSILIUM MEDICUM.* 2013. Т. 15. № 10. С. 18–23.
15. Holloway C.D., MacKenzie S.M., Fraser R. et al. Effects of genetic variation in the aldosterone synthase (CYP11B2) gene on enzyme function // *Clin. Endocrinol. (Oxf.).* 2009. V. 70. № 3. P. 363–371. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2008.03383.x>
16. Lövås K., McFarlane I., Nguyen H.H. et al. A novel CYP11B2 gene mutation in an Asian family with aldosterone synthase deficiency // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009. V. 94. № 3. P. 914–919. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1524>
17. White P.C., Hautanen A., Kupari M. Aldosterone synthase (CYP11B2) polymorphisms and cardiovascular function // *Endocr. Res.* 1998. V. 24. № 3–4. P. 797–804. <https://doi.org/10.3109/07435809809032690>
18. Baughman R.P., Culver D.A., Judson M.A. A concise review of pulmonary sarcoidosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011. V. 183. № 5. P. 573–581. <https://doi.org/10.1164/rccm.201006-0865CI>
19. Hlubocká Z., Jáchymová M., Heller S. et al. Association of the –344T/C aldosterone synthase gene variant with essential hypertension // *Physiol. Res.* 2009. V. 58. № 6. P. 785–792.
20. Brown N.J. Contribution of aldosterone to cardiovascular and renal inflammation and fibrosis // *Nat. Rev. Nephrology.* 2013. V. 9. № 8. P. 459–469. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2013.110>
21. de Man F.S., Tu L., Handoko M.L. et al. Dysregulated renin-angiotensin-aldosterone system contributes to pulmonary arterial hypertension // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012. V. 186. № 8. P. 780–789. <https://doi.org/10.1164/rccm.201203-0411OC>
22. Song G.G., Kim J.H., Lee Y.H. Associations between the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and susceptibility to sarcoidosis: A meta-analysis // *J. Renin. Angiotensin Aldosterone Syst.* 2015. V. 16. № 1. P. 219–226. <https://doi.org/10.1177/1470320313489059>
23. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels // *J. Clin. Invest.* 1990. V. 86. № 4. P. 1343–1346. <https://doi.org/10.1172/JCI114844>
24. Williams J.S., Williams G.H. 50th Anniversary of aldosterone // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003. V. 88. № 6. P. 2364–2372. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030490>

25. Jia M., Zhang H., Song X. *et al.* Association of CYP11B2 polymorphisms with susceptibility to primary aldosteronism: a meta-analysis // *Endocr. J.* 2013. V. 60. № 7. P. 861–870.  
<https://doi.org/10.1507/endocrj.ej12-0455>
26. White P.C., Slutsker L. Haplotype analysis of CYP11B2 // *Endocr. Res.* 1995. V. 21. № 1–2. P. 437–442.  
<https://doi.org/10.3109/07435809509030459>
27. Tamaki S., Iwai N., Tsujita Y. Genetic polymorphism of CYP11B2 gene and hypertension in Japanese // *Hypertension.* 1999. V. 33. P. 266–270.
28. Mopidevi B., Sivankutty I., Hao S. *et al.* Effects of intron conversion in the human CYP11B2 gene on its transcription and blood pressure regulation in transgenic mice // *J. Biol. Chem.* 2020. Jun 15; jbc.RA120.013047.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013047>
29. Herrada A.A., Campino C., Amador C.A. *et al.* Aldosterone as a modulator of immunity: implications in the organ damage // *J. Hypertension.* 2011. V. 29. № 9. P. 1684–1692.  
<https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32834a4c75>
30. Muñoz-Durango N., Barake M.F., Letelier N.A. Immune system alterations by aldosterone during hypertension: From clinical observations to genomic and nongenomic mechanisms leading to vascular damage // *Curr. Mol. Med.* 2013. V. 6. P. 1035–1046.  
<https://doi.org/10.2174/1566524011313060015>
31. Lombès M., Binart N., Oblin M.E. *et al.* Characterization of the interaction of the human mineralocorticosteroid receptor with hormone response elements // *Biochem. J.* 1993. V. 292. № 2. P. 577–583.  
<https://doi.org/10.1042/bj2920577>
32. Muñoz-Durango N., Vecchiola A., Gonzalez-Gomez L.M. *et al.* Modulation of immunity and inflammation by the mineralocorticoid receptor and aldosterone // *Biomed. Res. Int.* 2015;2015:652738.  
<https://doi.org/10.1155/2015/652738>
33. Namsolleck P., Unger T. Aldosterone synthase inhibitors in cardiovascular and renal diseases // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2014. V. 9. P. 62–68.  
<https://doi.org/10.1093/ndt/gft402>
34. Lang F., Artunc F., Vallon V. The physiological impact of the serum and glucocorticoid-inducible kinase SGK1 // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2009. V. 18. P. 439–448.  
<https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32832f125e>

## Association of Polymorphic Locus rs1799998, c.–344T>C of Aldosterone Synthase (CYP11B2) Gene with Pulmonary Sarcoidosis Development

I. E. Malysheva<sup>a, \*</sup>, L. V. Topchieva<sup>a</sup>, and E. L. Tikhonovich<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Biology of Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, 185910 Russia*

<sup>b</sup>*Republican Hospital named after V.A. Baranov, Petrozavodsk, 185019 Russia*

\*e-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Pulmonary sarcoidosis is an immune-inflammatory disease. Aldosterone is able to activate cells of innate immunity, its level depends on the activity of aldosterone synthase (CYP11B2). The role of the *CYP11B2* gene in pulmonary sarcoidosis etiology and pathogenesis has not been studied. The aim of this study was to study the association of *CYP11B2* polymorphism (rs1799998, c.–344T>C) with development of sarcoidosis of the lungs and to assess the relationship of polymorphic variants of *CYP11B2* with biochemical parameters of plasma (CRP, VCAM1, IL1, IL6, TNF). The sample included 255 people (119 patients with pulmonary sarcoidosis diagnosis and 136 healthy donors) inhabiting the Republic of Karelia. Analysis of rs1799998 locus of *CYP11B2* in the groups indicated was carried out by the method of polymerase chain reaction followed by the analysis of restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The content of CRP, VCAM1, IL1, IL6, TNF in healthy people plasma was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In the group of patients with pulmonary sarcoidosis, the frequency of *TT* genotype for rs1799998 of *CYP11B2* gene was found to be significantly higher than in the group of healthy people ( $\chi^2 = 4.05$ ;  $p = 0.045$ ). An increased risk of pulmonary sarcoidosis development was revealed in carriers of *T* allele (OR = 1.60; 95% CI: 1.102–2.221) and *TT* genotype (OR = 2.16; 95% CI: 1.181–3.947). The content of VCAM1 in plasma of healthy donors was significantly higher in persons with *TT* genotype compared with carriers of alternative genotypes (1465.91 ng/ml and 967.05 ng/mL, respectively;  $p = 0.002$ ).

**Keywords:** pulmonary sarcoidosis, aldosterone synthase gene, pulmonary hypertension, VCAM1.