

УДК 577.21:616.248

АССОЦИАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В МЕТАБОЛИЗМЕ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДОВ, С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

© 2019 г. Ю. Ю. Федорова^{1, *}, А. С. Карунас^{1,3, **}, Р. Р. Мурзина³, О. Н. Савельева²,
Г. Ф. Гималова¹, Р. Ф. Гатиятуллин³, Э. И. Эткина³, Э. К. Хуснутдинова^{1,3}

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук, Уфа, 450054 Россия

²Башкирский государственный университет, кафедра генетики и фундаментальной медицины, Уфа, 450076 Россия

³Башкирский государственный медицинский университет, кафедра госпитальной педиатрии,
кафедра детских болезней, кафедра медицинской генетики и фундаментальной медицины, Уфа, 450000 Россия

*e-mail: fedorova-y@yandex.ru

**e-mail: carunas@list.ru

Поступила в редакцию 03.02.2019 г.

После доработки 02.04.2019 г.

Принята к публикации 05.04.2019 г.

Бронхиальная астма (БА) – распространенное тяжелое и инвалидизирующее многофакторное заболевание. До 50–60% различий в чувствительности к терапии у пациентов с БА обусловлено генетической вариабельностью. Проведено исследование полиморфных вариантов четырех генов, участвующих в метаболизме глюкокортикостероидов, у пациентов с БА и здоровых индивидов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности: rs37973 гена глюкокортикоид-индуцированного транскрипта 1 (*GLCC11*), rs2305089 гена транскрипционного фактора Т (*TBX1*), rs10044254 гена белка, содержащего лейцин-богатые повторы и F-бокс-домен (*FBXL7*), rs11123610 гена аллантаойказы (*ALLC*). Установлено, что у татар аллель rs37973*G гена *GLCC11* является маркером повышенного риска развития БА с неконтролируемым течением, а снижение показателей спирометрии отмечено у пациентов с генотипами rs37973*AG и rs37973*GG гена *GLCC11*, по сравнению с детьми, носителями генотипа rs37973*AA. У башкир маркером повышенного риска развития заболевания является аллель rs2305089*T полиморфного варианта гена *TBX1*.

Ключевые слова: бронхиальная астма, полиморфный вариант, гены, ответственные за метаболизм глюкокортикостероидов, ассоциация.

DOI: 10.1134/S001667581912004X

Бронхиальная астма (БА) – одно из наиболее распространенных тяжелых и инвалидизирующих многофакторных заболеваний, развивающихся при тесном взаимодействии генетических и средовых факторов риска. Глюкокортикостероиды (ГКС) являются эффективными и используемыми препаратами для лечения хронического аллергического воспаления дыхательных путей у пациентов с БА [1]. Несмотря на достигнутые успехи клинической фармакологии, у 10–20% пациентов, особенно с тяжелой формой БА, не удается достичь полного контроля над заболеванием [1, 2]. Именно ответ на терапию ГКС лежит в основе как определений неконтролируемой БА, так и классификаций терапевтической резистентности. При исследовании индивидуального ответа пациентов с БА на лечение ГКС установлено, что до 50–60% различий в чувствительности к препа-

ратам обусловлено генетическими факторами, поэтому вклад генетической составляющей в эффективность терапии ГКС активно исследуется во всем мире [1–4].

По данным литературы и результатам выполненных нами ранее исследований, изменение эффективности терапии ГКС у больных БА ассоциировано с полиморфными вариантами в генах глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* и рецептора кортикотропин-релизинг гормона *CRHR1* [2–4]. В ряде работ установлена роль полиморфных вариантов генов *TBX21*, *WDR21A*, *eNOS*, *ORMDL3*, *HDAC1* и *ADRB2* в развитии БА и эффективности лечения [2, 4]. Значительный прогресс в изучении патогенеза БА и генетических основ чувствительности к препаратам у больных БА достигнут благодаря применению технологии полногеномного анализа ассоциаций (Genome-

wide Association Study, GWAS) и исследованию больших выборок (>100 тыс. образцов) в рамках работ международных консорциумов. Начиная с 2007 г., выполнено более 90 GWAS БА в различных популяциях мира, в результате которых идентифицировано более 1100 ассоциированных с БА полиморфных вариантов, в том числе локализованных в генах, участвующих в развитии воспалительных реакций (*IL13*, *IL6R*, *DENND1B*, *LRRC32*, *IL2RB*, *IL1RL1*), в барьерной функции эпителия (*IL33*, *IL1RL1*, *C11orf30*, *TSLP*, *CDHR3*), сокращения гладких мышц дыхательных путей (*PDE4D*), в апоптозе и дифференцировке клеток (*GSDMB*) и др. (<http://www.ebi.ac.uk/gwas/>) [5–7]. В результате GWAS идентифицированы новые гены, ассоциированные с изменением функции легких у пациентов с БА в ответ на лечение ГКС (*GLCC11*, *TBXT*, *FBLX7*, *ALLC*), на терапии б2-агонистами (*SPATS2L*, *THRB*, *SLC22A15*), на лечении антилейкотриеновыми препаратами (*MRPP3*) [2, 4, 8–11]. Учитывая существование межэтнических различий и необходимость репликации результатов GWAS в различных популяциях для выявления общих и этноспецифичных маркеров заболевания, представляется актуальным изучение генетических маркеров эффективности проводимой терапии ГКС у больных бронхиальной астмой различной этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан (РБ).

Цель настоящего исследования – оценка роли полиморфных вариантов генов глюкокортикоид-индуцированного транскрипта 1 (*GLCC11*, rs37973), транскрипционного фактора Т (*TBXT*, rs2305089), белка, содержащего лейцин-богатые повторы и F-бокс-домен (*FBLX7*, rs10044254), аллантаоказы (*ALLC*, rs11123610) в развитии бронхиальной астмы и эффективности ответа на терапию в группе пациентов, находящихся на лечении ГКС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы образцы ДНК 430 неродственных индивидов, проживающих на территории РБ, в возрасте 2–17 лет (табл. 1). Группу пациентов составили 236 больных бронхиальной астмой (70 девочек, 166 мальчиков) различной этнической принадлежности (русские – 84, татары – 108, башкиры – 44). Все обследованные были пациентами детского отделения Клиники ФГБОУ ВО “Башкирского государственного медицинского университета” Минздрава России и аллергологического отделения ГБУЗ “Республиканской детской клинической больницы” г. Уфы. Критериями включения детей в основную группу наблюдения являлись установленный ранее диагноз “бронхиальная астма”, терапия ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) не менее трех месяцев. Диагноз БА устанавливался в соответствии с критериями GINA (Global Initia-

tive for Asthma) и критериями отечественных программных документов по диагностике, лечению и профилактике БА [1, 12]. Оценку функции внешнего дыхания проводили на компьютерном спирографе (Erich Jaeger, Германия) с анализом кривой “поток–объем”. Оценивались следующие показатели (в % от должных величин, заложенных в компьютерную базу спирометра): жизненная емкость легких (ЖЕЛ), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 с (ОФВ1), максимальные объемные скорости потока кривой в точках, соответствующих объему легких 75, 50, 25% ФЖЕЛ (МОС75, МОС50, МОС25 соответственно). Градации нормы и снижение параметров спирограммы в % от должностной величины для детей до 18 лет оценивали по Клементу и Зильберу (табл. 2) [13]. В качестве контроля исследована группа практически здоровых детей без бронхолегочных, аллергических и аутоиммунных заболеваний, с неотягощенной наследственностью в отношении аллергических заболеваний с низким уровнем общего иммуноглобулина (IgE) (0–150 МЕ/мл), состоящая из 194 человек (119 девочек, 75 мальчиков) соответствующей этнической принадлежности (русские – 75, татары – 83, башкиры – 36). Все дети с 15 лет, участвующие в исследовании, и родители детей младше 15 лет дали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальными биоэтическими комитетами БГМУ (протокол № 28 от 29.10.2012) и ИБГ УФИЦ РАН (протокол № 4 от 15.11.2012).

Геномная ДНК выделена из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [14]. Анализ полиморфных вариантов четырех генов, участвующих в метаболизме ГКС (rs37973 (с.-1106G>A) гена глюкокортикоид-индуцированного транскрипта 1 (*GLCC11*), rs2305089 (с.530C>T) гена транскрипционного фактора Т (*TBXT*, *TFT*, *T*), rs10044254 (с.128-1444403A>G) гена белка, содержащего лейцин-богатые повторы и F-бокс-домен (*FBLX7*), rs11123610 (с.84+1311G>A) гена аллантаоказы (*ALLC*)), у пациентов с БА и здоровых индивидов проведен с использованием набора реагентов для амплификации ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS) (ООО “ТестГен”, Москва) согласно протоколу фирмы-производителя с помощью системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 (BioRad, США). Выполнен анализ ассоциаций изученных локусов с развитием БА, с клинико-функциональными особенностями БА (тяжестью заболевания, возрастом манифестации, уровнем общего IgE, показателями спирографии) у индивидов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности. Подбор генов осуществлен на основании литературных данных по полноге-

Таблица 1. Характеристика больных БА и контрольной группы

Показатель	Выборки		
	русские	татары	башкиры
Больные БА			
Объем выборки	84	108	44
Возраст, годы (M ± S.E.)	10.45 ± 0.39	10.72 ± 0.31	10.34 ± 0.54
Возраст начала БА, годы (M ± S.E.)	3.85 ± 0.34	3.48 ± 0.29	3.73 ± 0.47
Девочки, число (%)	24 (28.57)	37 (34.26)	9 (20.45)
Уровень общего IgE, МЕ/мл (M ± S.E.)	432.15 ± 46.15	431.67 ± 38.86	425.30 ± 58.0
ОФВ1, % от нормы (M ± S.E.)	62.51 ± 3.59	73.27 ± 4.64	81.22 ± 8.30
Суточная доза ГКС, мг (M ± S.E.)	275.41 ± 23.39	275.81 ± 13.49	289.58 ± 23.50
Контрольная группа			
Объем выборки	75	83	36
Возраст, годы (M ± S.E.)	11.49 ± 0.43	13.54 ± 0.42	14.19 ± 0.58
Девочки, число (%)	43 (57.33)	58 (69.88)	18 (50.0)

Примечание. M – среднее, S.E. – стандартная ошибка среднего значения.

Таблица 2. Градации нормальных значений и отклонения от нормы основных показателей спирограммы в % от должноствующей величины для детей до 18 лет [13]

Показатель	Границы нормы	Градации снижения		
		легкое	умеренное	значительное
ЖЕЛ	79.3–112.6	66.8	60.6	54.4
ФЖЕЛ	78.1–113.3	67.6	62.4	57.2
ОФВ1	78.1–113.6	67.3	61.9	56.5
МОС25	71.7–117.2	54.7	46.2	37.7
МОС50	71.5–117.3	51.1	40.9	30.7
МОС75	61.2–123.6	44.5	36.1	27.8

Примечание. Указанные в таблице числа обозначают нижнюю границу градации.

номным анализам ассоциаций (GWAS) и предполагаемой роли идентифицированных генов в развитии БА.

Для проверки соответствия наблюдаемого распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению по закону Харди–Вайнберга использовался критерий χ^2 . При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля применялся критерий χ^2 для таблиц сопряженности 2×2 с поправкой Йейтса на непрерывность. В случае достоверных отличий в исследуемых выборках проводили оценку показателя отношения шансов (odds ratio, OR), а также границ его 95%-ного доверительного интервала (95%CI). Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием параметрической и непараметрической статистики в зависимости от шкал и характера распределения переменных с помощью программы SPSS v. 23 (SPSS Inc.). Вид

распределения количественных данных оценивали по критерию Колмогорова–Смирнова. Равенство генеральных дисперсий оценивали с помощью критерия Левена. После подтверждения нормальности распределения данных и равенства генеральных дисперсий в сравниваемых выборках применяли *t*-критерий Стьюдента для сравнения двух групп и однофакторный дисперсионный анализ – для сравнения трех и более выборок (лиц с различными генотипами или диагнозами). В случаях отличного от нормального распределения или при невыполнении условий равенства дисперсий в аналогичных сравнениях применяли непараметрические тесты (*T*-критерий Манна–Уитни и *H*-критерий Краскела–Уоллиса). Анализ ассоциаций полиморфных вариантов с риском БА в различных моделях с учетом категориальных признаков (пол и этническая принадлежность), вводимых в уравнение регрессии в качестве независимых переменных, осуществлялся с помощью метода логистической регрессии с применением

пакетов программ SPSS v. 23 и SNPStats (<https://www.snpsstats.net/start.htm>) [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение частот генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0.05$) для всех исследованных полиморфных вариантов. Частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного варианта rs37973 гена *GLCC11* у больных БА и здоровых индивидов представлены в табл. 3. Частота аллеля rs37973*G гена *GLCC11* в контрольной группе русских составила 50.67%, в выборке татар – 41.57%, а в группе башкир – 44.44%. Обнаружена ассоциация аллеля rs37973*G с развитием бронхиальной астмы у индивидов татарской этнической принадлежности ($p = 0.03$; OR = 1.57; 95%CI 1.04–2.36) (табл. 3). Генотип rs37973*AA и аллель rs37973*A полиморфного варианта гена *GLCC11* являются маркерами пониженного риска развития БА у татар ($p = 0.02$; OR = 0.45; 95%CI 0.23–0.87 и $p = 0.03$; OR = 0.64; 95%CI 0.42–0.96 соответственно). Аллель rs37973*G полиморфного варианта гена *GLCC11* ассоциирован также с неконтролируемым течением БА у татар ($p = 0.02$; OR = 1.74; 95%CI 1.07–2.83). Частота аллеля rs37973*A в выборке больных татарской этнической принадлежности с неконтролируемой БА была статистически значимо ниже (44.64%), чем в контрольной группе ($p = 0.02$; OR = 0.57; 95%CI 0.35–0.93).

Проведенный нами анализ вариативности количественных показателей спирометрии в зависимости от генотипов исследованного локуса гена *GLCC11* у индивидов татарской этнической принадлежности показал более низкие значения МОС75 у носителей генотипов rs37973*AG ($M \pm S.E.$; 74.24 ± 5.02) и rs37973*GG (81.11 ± 7.21), по сравнению с больными БА, имеющими генотип rs37973*AA (103.8 ± 9.53 ; $p = 0.013$). При попарном сравнении групп выявлено статистически значимое снижение параметров МОС75 у пациентов, имеющих генотип rs37973*AG, по сравнению с носителями генотипа rs37973*AA ($p = 0.005$).

Результаты проведенного анализа распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs2305089 гена транскрипционного фактора Т (*TBX1*) в выборках больных БА и контроля представлены в табл. 3. Обнаружено, что частота аллеля rs2305089*T в контрольной группе русских составила 45.33%, татар – 51.83%, башкир – 34.72%. Установлена ассоциация аллеля rs2305089*T гена *TBX1* с риском развития бронхиальной астмы у башкир ($p = 0.02$; OR = 2.16; 95%CI 1.14–4.09). Генотип rs2305089*CC и аллель rs2305089*C полиморфного варианта гена *TBX1* являются маркерами пониженного риска развития БА у башкир ($p = 0.04$; OR = 0.37; 95%CI 0.14–0.96 и $p = 0.02$; OR = 0.46; 95%CI 0.24–0.88 соответственно).

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs10044254 гена белка, содержащего лейцин-богатые повторы и F-box-домен (*FBXL7*), показал, что менее распространенным в контрольных группах русских, татар и башкир является аллель rs10044254*G (27.78, 26.92 и 19.44% соответственно) (табл. 3). При сравнении групп больных со здоровыми индивидами согласно их этнической принадлежности статистически значимых ассоциаций полиморфного варианта rs10044254 гена *FBXL7* с риском развития БА не установлено ($p > 0.05$). Отличия в распределении частот генотипов rs10044254 были выявлены при разделении пациентов с учетом отклонений от нормы показателей спирометрии в сравнении с группой контроля. Частота гетерозиготного генотипа rs10044254*AG (23.33 и 16.67%) у больных русской этнической принадлежности со значительными снижениями параметров ОФВ1 и МОС25 была ниже, чем в контрольной группе индивидов ($p = 0.04$; OR = 0.38; 95%CI 0.14–0.99 и $p = 0.008$; OR = 0.25; 95%CI 0.09–0.73 соответственно). Частота гомозиготного генотипа rs10044254*AA у пациентов русской этнической принадлежности со значительно сниженными показателями МОС25 была статистически значимо выше (73.33%), чем в контрольной группе (50.00%; $p = 0.03$; OR = 2.75; 95%CI 1.08–6.98).

Проведенное нами исследование полиморфного варианта rs11123610 гена аллантаоказы (*ALLC*) не выявило статистически значимых различий частот аллелей и генотипов данного локуса между выборкой больных БА и контрольной группой ($p > 0.05$). Наименее распространенным во всех группах является аллель rs11123610*G, выявленный в контрольной группе русских с частотой 38.51%, в контрольной группе татар – 39.51%, в контрольной группе башкир – 30.0%.

Помимо анализа ассоциаций полиморфных вариантов с развитием БА и чувствительностью к терапии ГКС в отдельных этнических группах, с целью усиления мощности исследования и выявления общих маркеров риска нами был проведен регрессионный анализ исследованных полиморфных вариантов генов в объединенных выборках русских, татар и башкир с учетом пола и этнической принадлежности (табл. 4). Ассоциацию с риском БА определяли по пяти возможным моделям наследования (кодминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной и лог-аддитивной). Для каждого полиморфного варианта в табл. 4 приведены данные по моделям с наименьшими значениями информационного критерия Акаике (AIC). В результате проведенного анализа статистически значимых различий между больными БА и контролем в объединенной выборке индивидов по полиморфным локусам rs37973, rs2305089, rs10044254 и rs11123610 не обнаружено ($p > 0.05$).

Таблица 3. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs37973 гена *GLCCII*, rs2305089 гена *TBXT*, rs10044254 гена *FBXL7*, rs11123610 гена *ALLC* у больных БА и в контрольной группе

		Генотипы			Аллели		N
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
rs37973		AA	AG	GG	A	G	
Больные БА	Русские	26 (30.95)	42 (50.0)	16 (19.05)	94 (55.95)	74 (44.05)	84
	Татары	20 (18.52)	62 (57.41)	26 (24.07)	102 (47.22)	114 (52.78)	108
	Башкиры	15 (34.09)			20 (45.45)	9 (20.45)	
		$p = 0.02$; OR = 0.45 (0.23–0.87)		$p = 0.03$; OR = 0.64 (0.42–0.96)		$p = 0.03$; OR = 1.57 (1.04–2.36)	
Контроль	Русские	20 (26.67)	34 (45.33)	21 (28.0)	74 (49.33)	76 (50.67)	75
	Татары	28 (33.73)	41 (49.40)	14 (16.87)	97 (58.43)	69 (41.57)	83
	Башкиры	12 (33.33)	16 (44.44)	8 (22.22)	40 (55.56)	32 (44.44)	36
rs2305089		CC	CT	TT	C	T	
Больные БА	Русские	27 (32.14)	39 (46.43)	18 (21.43)	93 (55.36)	75 (44.64)	84
	Татары	29 (26.85)	62 (57.41)	17 (15.74)	120 (55.56)	96 (44.44)	108
	Башкиры	10 (22.73)	21 (47.73)	13 (29.55)	41 (46.59)	47 (53.41)	44
		$p = 0.04$; OR = 0.37 (0.14–0.96)			$p = 0.02$; OR = 0.46 (0.24–0.88)		
Контроль	Русские	22 (29.33)	38 (50.67)	15 (20.0)	82 (54.67)	68 (45.33)	75
	Татары	19 (23.17)	41 (50.00)	22 (26.83)	79 (48.17)	85 (51.83)	82
	Башкиры	16 (44.44)	15 (41.67)	5 (13.89)	47 (65.28)	25 (34.72)	36
rs10044254		AA	AG	GG	A	G	
Больные БА	Русские	51 (61.45)	26 (31.33)	6 (7.23)	128 (77.11)	38 (22.89)	83
	Татары	67 (62.04)	36 (33.33)	5 (4.63)	170 (78.70)	46 (21.30)	108
	Башкиры	27 (62.79)	12 (27.91)	4 (9.30)	66 (76.74)	20 (23.26)	43
Контроль	Русские	36 (50.0)	32 (44.44)	4 (5.56)	104 (72.22)	40 (27.78)	72
	Татары	45 (57.69)	24 (30.77)	9 (11.54)	114 (73.08)	42 (26.92)	78
	Башкиры	24 (66.67)	10 (27.78)	2 (5.56)	58 (80.56)	14 (19.44)	36
rs11123610		AA	AG	GG	A	G	
Больные БА	Русские	27 (32.93)	39 (47.56)	16 (19.51)	93 (56.71)	71 (43.29)	82
	Татары	42 (39.25)	53 (49.53)	12 (11.21)	137 (64.02)	77 (35.98)	107
	Башкиры	22 (50.0)	15 (34.09)	7 (15.91)	59 (67.05)	29 (32.95)	44
Контроль	Русские	26 (35.14)	39 (52.7)	9 (12.16)	91 (61.49)	57 (38.51)	74
	Татары	27 (33.33)	44 (54.32)	10 (12.35)	98 (60.49)	64 (39.51)	81
	Башкиры	16 (45.71)	17 (48.57)	2 (5.71)	49 (70.0)	21 (30.0)	35

Примечание. N – число индивидов; n – численности групп, в скобках – частота аллелей и генотипов, %; p – уровень значимости, указан только при наличии статистической значимости (при $p < 0.05$); OR – показатель отношения шансов и 95%-ный доверительный интервал (в скобках).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проблема контроля БА требует глубокого анализа факторов, ответственных за прогрессирующее заболевание и развитие обострений, а также

разработки целевой терапии БА с учетом клинико-инструментального и молекулярно-генетического обследования пациентов. В последние годы в мире были сделаны многочисленные попытки идентифицировать гены, ответственные за мета-

Таблица 4. Результаты анализа ассоциаций полиморфных вариантов rs37973 гена *GLCCII*, rs2305089 гена *TBX1*, rs10044254 гена *FBXL7*, rs11123610 гена *ALLC* с риском развития БА в объединенных выборках

Полиморфный вариант	Генотип, модель	Больные БА <i>n</i> (%)	Контроль <i>n</i> (%)	<i>p</i> _{adj}	OR _{adj} (95% CI)	AIC	<i>N</i>
rs37973	AA (AG + GG), доминантная	61 (25.9) 175 (74.1)	60 (30.9) 134 (69.1)	0.47	1.00 1.18 (0.75–1.84)	555.6	430
	AG (AA + GG), сверхдоминантная	124 (52.5) 112 (47.5)	91 (46.9) 103 (53.1)	0.53	1.00 1.14 (0.76–1.71)	555.7	
	Аддитивная	–	–	0.64	1.07 (0.80–1.42)	555.9	
rs2305089	CC (TC + TT), доминантная	66 (28.0) 170 (72.0)	57 (29.5) 136 (70.5)	0.41	1.00 1.21 (0.77–1.89)	552.8	429
	TC (CC + TT), сверхдоминантная	122 (51.7) 114 (48.3)	94 (48.7) 99 (51.3)	0.25	1.00 1.27 (0.85–1.91)	552.1	
	Аддитивная	–	–	0.82	1.03 (0.78–1.38)	553.4	
rs10044254	AA (AG + GG), доминантная	145 (62.0) 89 (38.0)	107 (56.9) 81 (43.1)	0.34	1.00 0.82 (0.54–1.23)	543.4	422
	GG (AG + AA), рецессивная	15 (6.4) 219 (93.6)	15 (8.0) 173 (92.0)	0.40	1.00 0.72 (0.33–1.57)	543.6	
	Аддитивная	–	–	0.27	0.83 (0.60–1.15)	543.1	
rs11123610	AA (AG + GG), доминантная	91 (39.1) 142 (60.9)	69 (36.3) 121 (63.7)	0.40	1.00 0.83 (0.55–1.27)	544.9	423
	AG (AA + GG), сверхдоминантная	107 (45.9) 126 (54.1)	100 (52.6) 90 (47.4)	0.15	1.00 0.74 (0.49–1.11)	543.5	
	Аддитивная	–	–	0.89	0.98 (0.72–1.33)	545.6	

Примечание. *N* – число индивидов, включенных в регрессионный анализ; *n* – численности групп, в скобках – частота генотипов, %; *p*_{adj} – значимость для теста отношения правдоподобия лог-регрессионной модели с учетом пола и этнической принадлежности индивидов; OR_{adj} – показатель отношения шансов и 95%-ный доверительный интервал (в скобках).

болизм препаратов, применяемых при лечении БА [2, 4, 8–11]. В рамках этих работ нами ранее было проведено исследование полиморфных вариантов генов *NR3C1*, *CRHR1*, *TBX21* у детей, больных БА, находящихся на терапии ГКС, и здоровых индивидов, проживающих на территории РБ. В результате установлена ассоциация полиморфных вариантов генов *NR3C1* и *CRHR1* с риском развития БА и со снижением показателей функции внешнего дыхания у больных БА на фоне лечения ГКС [3]. Анализ ассоциации аллельных вариантов генов (*GLCCII*, *TBX1*, *FBXL7*, *ALLC*), идентифицированных с помощью GWAS, с эффективностью терапии ГКС у больных БА проводят во многих странах, однако у пациентов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности из РБ данное исследование проведено впервые.

Наиболее значимые ассоциации с развитием БА, в том числе и в группах, дифференцированных по тяжести и контролю заболевания, были установлены для аллельных вариантов гена *GLCCII* (rs37973), кодирующего глюкокортикоид-индуцированный транскрипт 1. У татар, носителей ал-

леля rs37973**G* гена *GLCCII*, риск развития неконтролируемого течения БА выше, показатели спирографии в группе пациентов татарской этнической принадлежности с генотипами rs37973**AG* и rs37973**GG* гена *GLCCII* ниже по сравнению с детьми – носителями генотипа rs37973**AA*. В литературе ассоциация полиморфного варианта rs37972, находящегося в тесном неравновесии по сцеплению с полиморфным вариантом rs37973 гена *GLCCII*, с пониженными значениями показателей функции легких в ответ на медикаментозную терапию ГКС была установлена в результате GWAS-исследования у пациентов с БА европейского происхождения [8]. Ген *GLCCII* расположен на хромосоме 7p21.3 и содержит восемь экзонов. Функциональная роль белкового продукта гена в ГКС-опосредованной передаче сигналов была впервые описана Charman с соавт., которые идентифицировали несколько дифференцированно экспрессирующихся последовательностей в ответ на введение дексаметазона в ГКС-чувствительных и ГКС-резистентных клеточных линиях. Ген *GLCCII* экспрессируется как в клетках легких, так и в иммунных клетках, экспрессия ге-

на значительно усиливается под действием ГКС. Предположительно белковый продукт *GLCCI1* является маркером раннего апоптоза в клетках, обработанных ГКС. Нарушение регуляции апоптоза играет ключевую роль в развитии и поддержании воспалительных реакций при БА [8]. Последующие исследования не выявили статистически значимых ассоциаций между полиморфным вариантом rs37973 и ответом на терапию ГКС у пациентов европейского происхождения [16, 17]. У японских пациентов с БА, носителей генотипа rs37973*GG, в течение четырехлетнего периода наблюдалось значительное снижение показателей функции легких, по сравнению с пациентами, имеющими другие генотипы по rs37973, независимо от использования ГКС [18]. В совокупности эти исследования подтверждают, что у пациентов, носителей минорного аллеля rs37973*G гена *GLCCI1*, может наблюдаться сниженный ответ на лечение ГКС, но с небольшим эффектом проявления признака.

В настоящем исследовании установлена ассоциация аллеля rs2305089*Т гена транскрипционного фактора *TBX1* с риском развития БА у детей башкирской этнической принадлежности. Полиморфные варианты в гене *TBX1* (rs3099266, rs1134481 и rs2305089), ассоциированные с изменениями показателей спирометрии у пациентов европейского происхождения, находящихся на терапии ГКС, установлены в результате GWAS-исследования [9]. Ген *TBX1* расположен в хромосомной области 6q27, содержит девять экзонов и является членом древнего семейства генов, содержащих общий белковый мотив – Т-локус. Ген *TBX1* кодирует ключевой мезодермальный транскрипционный фактор, экспрессируется на достаточно ранних стадиях эмбриогенеза и может влиять на развитие мезодермы в целом, в том числе легких. Роль гена *TBX1* в патогенезе БА и метаболизме ГКС была подтверждена с помощью компьютерного моделирования потенциальных взаимодействий генов транскрипционного фактора *TBX1* и глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* [9]. В работе Keskin с соавт. [19] не обнаружено ассоциаций полиморфных вариантов rs3099266 и rs2305089 гена *TBX1* с клиническим ответом на повышенные дозы ГКС у детей с БА, проживающих в Турции. Аллельные варианты гена *TBX1* могут быть важным фактором риска возникновения и прогрессирования БА, тем не менее ввиду малочисленной выборки детей башкирской этнической принадлежности необходимо провести дополнительные исследования, увеличив объем выборки.

Park с соавт. [10] в результате GWAS-исследования эффективности терапии ГКС у больных БА европейского происхождения идентифицировали полиморфный локус rs10044254, расположенный в интронной области гена *FBXL7*. Авторами была выявлена ассоциация аллеля rs10044254*G

со сниженной экспрессией гена в иммортализованных В-клетках и ухудшением самочувствия у пациентов в ответ на лечение ГКС. Ген *FBXL7* локализован в хромосомной области 5p15.1, состоит из семи экзонов и кодирует белковый продукт, который принадлежит семейству F-box белков и является одним из четырех субъединиц комплекса убиквитин–протеиназы (SCF, SKP1-cullin-F-box). Возможная роль белкового продукта гена *FBXL7* в патогенезе БА – это деградация рецепторов цитоккинов. К примеру, белок *FBXL19* осуществляет деградацию рецептора IL33, уменьшая воспаление в легких. Следующий возможный механизм – это деградация индуцируемого при гипоксии фактора 1 (HIF), который негативно регулируется *FBXL7*-опосредованным путем во время гипоксии и одышки [10]. В результате нашего исследования установлена ассоциация генотипа rs10044254*AA гена *FBXL7* со значительно сниженными показателями МОС25 у пациентов с БА русской этнической принадлежности, однако полученные на начальном этапе исследования данные не позволяют сделать однозначных выводов о значимой роли гена *FBXL7* в патогенезе БА и эффективности терапии ГКС.

При полногеномном анализе ассоциаций БА у корейцев выявлены полиморфные варианты в гене аллантаоказы *ALLC*, ассоциированные с изменением ОФВ1 в ответ на ГКС. Ген *ALLC* расположен на хромосоме 2p25.3 и содержит 12 экзонов. Аллантаоказа относится к классу гидролаз, катализирующих гидролиз связей С-N (непептидных), и участвует в метаболизме пуринов. Несмотря на отсутствие активности гена *ALLC* у позвоночных, транскрипты гена *ALLC* были обнаружены у мышей и у людей. Было высказано предположение, что уровни мочевого кислоты значительно выше у пациентов с аллергической астмой, которые не получали ГКС, чем у пациентов, находящихся на терапии ГКС [11]. Полученные результаты в литературе единичны и требуют подтверждения на других выборках пациентов. Наши исследования не обнаружили статистически значимых ассоциаций полиморфного варианта гена *ALLC* с риском развития БА.

Для увеличения статистической мощности исследования нами проведен регрессионный анализ ассоциации изученных полиморфных вариантов генов-кандидатов с риском развития БА в объединенных выборках русских, татар, башкир с учетом пола и этнической принадлежности. Не установлено статистически значимых различий по полиморфным локусам rs37973, rs2305089, rs10044254 и rs1123610 между больными БА и здоровыми индивидами. Полученные результаты свидетельствуют о межэтнических различиях генетических маркеров риска развития БА и чувствительности к препаратам ГКС в рассматриваемых нами выборках.

Таким образом, проведено ассоциативное исследование полиморфных вариантов генов *GLCC11*, *TBXT*, *FBXL7*, *ALLC*, участвующих в метаболизме ГКС, у больных бронхиальной астмой различной этнической принадлежности и в соответствующих контрольных группах из РБ. Установлено, что аллель rs37973*G гена *GLCC11* является маркером повышенного риска развития БА с неконтролируемым течением у татар. Снижение показателей спирографии отмечено в группе пациентов татарской этнической принадлежности с генотипами rs37973*AG и rs37973*GG гена *GLCC11*, по сравнению с детьми – носителями генотипа rs37973*AA. Выявлено, что у башкир маркером повышенного риска развития заболевания является аллель rs2305089*T гена *TBXT*. Установлена ассоциация гомозиготного генотипа rs10044254*AA локуса гена *FBXL7* со значительно сниженными показателями МОС25 у пациентов русской этнической принадлежности.

Полученные в ходе выполнения исследования результаты позволяют глубже понять молекулярные основы патогенеза БА, а также идентифицировать генетические маркеры эффективности терапии ГКС у больных БА, что может быть востребовано для разработки новых подходов ранней диагностики, прогнозирования течения болезни и персонализации лечения больных БА.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116020350032-1) при частичной поддержке РФФИ (проект № 17-04-02195). Образцы ДНК для исследования использованы из “Коллекции биологических материалов человека” ИБГ УФИЦ РАН, поддержанной Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального 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. *Global Initiative for Asthma*. Global strategy for asthma management and prevention. Updated 2018. Vancouver: USA GINA, 2018. <https://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>.
2. *Isidoro-García M., Sánchez-Martín A., García-Sánchez A. et al.* Pharmacogenetics and the treatment of asthma // *Pharmacogenomics*. 2017. V. 18. № 13. P. 1271–1280. <https://doi.org/10.2217/pgs-2017-0024>
3. *Федорова Ю.Ю., Карунас А.С., Мурзина Р.Р. и др.* Исследование роли полиморфных вариантов генов, ответственных за метаболизм глюкокортикоидов, в развитии бронхиальной астмы // *Мед. генетика*. 2016. Т. 15. № 1. С. 27–37. <https://doi.org/10.1234/XXXX-XXXX-2016-1-27-36>
4. *Farzan N., Vijverberg S.J., Arets H.G. et al.* Pharmacogenomics of inhaled corticosteroids and leukotriene modifiers: a systematic review // *Clin. Exp. Allergy*. 2017. V. 47. № 2. P. 271–293. <https://doi.org/10.1111/cea.12844>
5. *Willis-Owen S.A.G., Cookson W.O.C., Moffatt M.F.* The genetics and genomics of asthma // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2018. V. 19. P. 223–246. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083117-021651>
6. *Карунас А.С., Юнусбаев Б.Б., Федорова Ю.Ю. и др.* Полногеномный анализ ассоциации бронхиальной астмы в Волго-Уральском регионе России // *Мол. биология*. 2011. Т. 45. № 6. С. 992–1003. <https://doi.org/10.1134/S0026893311060057>
7. *Карунас А.С., Юнусбаев Б.Б., Федорова Ю.Ю. и др.* Ассоциация полиморфных вариантов гена *муцина 19* с развитием бронхиальной астмы у русских по результатам полногеномного исследования // *Генетика*. 2015. Т. 51. № 11. С. 1315–1324. <https://doi.org/10.1134/S1022795415110083>
8. *Tantisira K.G., Lasky-Su J., Harada M. et al.* Genome-wide association between *GLCC11* and response to glucocorticoid therapy in asthma // *N. Engl. J. Med.* 2011. V. 365. № 13. P. 1173–1183.
9. *Tantisira K.G., Damask A., Szefler S.J. et al.* Genome-wide association identifies the *T* gene as a novel asthma pharmacogenetic locus // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012. V. 185. № 12. P. 1286–1291. <https://doi.org/10.1164/rccm.201111-2061OC>
10. *Park H.-W., Dahlin A., Tse S. et al.* Genetic predictors associated with improvement of asthma symptoms in response to inhaled corticosteroids // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014. V. 133. № 3. P. 664–669. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.12.1042>
11. *Park T.-J., Park J.-S., Cheong H.S. et al.* Genome-wide association study identifies *ALLC* polymorphisms correlated with FEV1 change by corticosteroid // *Clin. Chim. Acta*. 2014. V. 436. P. 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.04.023>
12. Национальная программа “Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика” / Под ред. Чучалина А.Г. М.: Атмосфера, 2008. 108 с.
13. *Клемент Р.Ф., Зильбер Н.А.* Функционально-диагностические исследования в пульмонологии: методические рекомендации. СПб., 1993. 43 с.
14. *Mathew C.C.* The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA // *Methods Mol. Med.* 1984. P. 31–34.
15. *Solé X., Guinó E., Valls J. et al.* SNPStats: a web tool for the analysis of association studies // *Bioinformatics*. 2006. V. 22. № 15. P. 1928–1929.
16. *Hosking L., Bleecker E., Ghosh S. et al.* *GLCC11* rs37973 does not influence treatment response to inhaled corticosteroids in white asthma subjects // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014. V. 133. № 2. P. 587–589. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.08.024>

17. *Vijverberg S.J., Tavendale R., Leusink M. et al.* Pharmacogenetic analysis of *GLCCI1* in three north European pediatric asthma populations with a reported use of inhaled corticosteroids // *Pharmacogenomics*. 2014. V. 15. № 6. P. 799–806. <https://doi.org/10.2217/pgs.14.37>
18. *Izuhara Y., Matsumoto H., Kanemitsu Y. et al.* *GLCCI1* variant accelerates pulmonary function decline in patients with asthma receiving inhaled corticosteroids // *Allergy*. 2014. V. 69. № 5. P. 668–673. <https://doi.org/10.1111/all.12400>
19. *Keskin O., Uluca U., Birben E. et al.* Genetic associations of the response to inhaled corticosteroids in children during an asthma exacerbation // *Pediatr. Allergy Immunol.* 2016. V. 27. № 5. P. 507–513. <https://doi.org/10.1111/pai.12566>

Association between Allelic Variants of the Genes Involved in Glucocorticoids Metabolism and Asthma

Yu. Yu. Fedorova^{a,*}, A. S. Karunas^{a,c,}, R. R. Murzina^c, O. N. Savelieva^b,
G. F. Gimalova^a, R. F. Gatiyatullin^c, E. I. Etkina^c, and E. K. Khusnutdinova^{a,c}**

^a*Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia*

^b*Department of Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State University, Ufa, 450076 Russia*

^c*Bashkir State Medical University, Ufa, 450000 Russia*

**e-mail: fedorova-y@yandex.ru*

***e-mail: carunas@list.ru*

Bronchial asthma (BA) is a common severe and disabling multifactorial disease. Up to 50–60% of differences in sensitivity to therapy in patients with BA is due to genetic variability. We studied polymorphic variants of four genes involved in the metabolism of glucocorticosteroids in patients with asthma and healthy individuals of Russian, Tatar and Bashkir ethnic origin: the rs37973 of the glucocorticoid-induced transcript 1 gene (*GLCCI1*), the rs2305089 of transcription factor T gene (*TBXT*), rs10044254 of the leucine-rich repeats and F-box domain containing protein gene (*FBXL7*), rs11123610 of the allantoicase gene (*ALLC*). It has been established that in Tatars, the rs37973**G* allele of the *GLCCI1* gene is a marker of an increased risk of developing BA with an uncontrolled course, and a decrease in spirometry is observed in patients with the rs37973**AG* and rs37973**GG* genotypes of the *GLCCI1* gene, compared to children with rs37973**AA* genotypes. In Bashkirs, a marker of an increased risk of developing the disease is the rs2305089**T* allele of the *TBXT* gene polymorphic variant.

Keywords: bronchial asthma, polymorphic variant, genes, involved in the regulation of glucocorticoids metabolism, association.