

О.Н. Савельева, А.С. Карунас, Ю.Ю. Федорова,
Р.Ф. Гатиятуллин, Э.И. Эткина, Э.К. Хуснутдинова

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ АМИНОКСИДАЗЫ 1 АОС1 И ГИСТАМИН-N-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ HNMT С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

DOI 10.25789/УМЖ.2020.72.05

УДК 616.248

Проведена оценка значимости полиморфных вариантов генов аминоксидазы АОС1 и гистамин-N-метилтрансферазы HNMT, участвующих в метаболизме гистамина, в прогнозировании риска развития бронхиальной астмы (БА) у детей, проживающих в Республике Башкортостан. Выявлены ассоциации генотипа rs1049793*CC и аллеля rs1049793*C гена АОС1 с развитием БА, со значительными снижениями показателей спирометрии у детей русской этнической принадлежности. Установлены ассоциации генотипа rs1801105*CT и аллеля rs1801105*T гена HNMT со значительным снижением мгновенной объемной скорости при выдохе 25% у больных БА татарской этнической принадлежности. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о роли полиморфных вариантов генов АОС1 и HNMT в развитии БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, полиморфный вариант, ген аминоксидазы АОС1, ген гистамин-N-метилтрансферазы HNMT.

The significance of polymorphic variants of amino oxidase AOC1 and histamine-N-methyltransferase HNMT genes, involved in histamine metabolism, with predicting the risk of developing bronchial asthma (BA) in children living in the Republic of Bashkortostan was evaluated. Associations of the rs1049793 * CC genotype and the rs1049793 * C allele of the AOC1 gene with the development of BA were revealed with significant reductions in spirometry indices in children of Russian ethnicity. There were associations of the rs1801105 * CT genotype and the rs1801105 * T allele of the HNMT gene with a significant decrease in MEF25 in BA patients of Tatar ethnicity. The results of this study indicate the role of polymorphic variants of the AOC1 and HNMT genes in the development of BA.

Keywords: bronchial asthma, polymorphic variant, association, amine oxidase gene AOC1, gene of histamine-N-methyltransferase HNMT.

Введение. Бронхиальная астма (БА) является тяжелым гетерогенным заболеванием, характеризующимся хроническим воспалением дыхательных путей. Распространенность БА в мире составляет 1-18% [6]. Несмотря на быстрое развитие современной медицины, в России у 10-20% больных диагностируется тяжелое течение БА с признаками терапевтической резистентности к различным группам лекарственных препаратов [2]. Генетическая вариабельность оказывает значи-

тельное влияние на чувствительность пациентов к назначаемой терапии [4]. Гистамин представляет собой биогенный амин, играющий важную роль в развитии воспалительного процесса. Активация гистаминовых рецепторов в легких приводит к бронхоспазму и обструкции дыхательных путей. Гистамин метаболизируется двумя основными ферментами - гистамин-N-метилтрансферазой (HNMT) и аминоксидазой (DAO, АОС1) [5]. В ряде исследований показано, что полиморфные локусы генов, кодирующих белки, участвующие в метаболизме гистамина, ассоциированы с развитием аллергических заболеваний [1, 5].

Целью данной работы была оценка значимости полиморфных вариантов генов аминоксидазы АОС1 и гистамин-N-метилтрансферазы HNMT, участвующих в метаболизме гистамина, в прогнозировании риска развития БА у детей различной этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан (РБ).

Материалы и методы исследования. В работе использованы образцы ДНК 430 неродственных индивидов, проживающих на территории РБ, в возрасте 2-17 лет. Группу пациентов составили 236 больных БА (70 девочек, 166 мальчиков) различной

этнической принадлежности (русские – 84, татары – 108, башкиры – 44). Все обследованные являлись пациентами детского отделения Клиники ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России и аллергологического отделения ГБУЗ РДКБ г. Уфа. Оценка показателей функции внешнего дыхания была проведена на компьютерном спирометре «Erich Jaeger» (Германия). В контрольную группу были включены 194 практически здоровых индивида (119 девочек, 75 мальчиков) соответствующей этнической принадлежности (русские – 75, татары – 83, башкиры – 36) без бронхолегочных и аллергических заболеваний, с низким уровнем общего иммуноглобулина Е (0-60 МЕ/мл). Дети с 15 лет и родители детей младше 15 лет дали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным биоэтическим комитетом ИБГ УФИЦ РАН (протокол № 7 от 10.02.2011 г.).

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфных вариантов rs1049793 (с.1990C>G, р.His664Asp) гена АОС1 и rs1801105 (с.314C>T, р.Thr105Ile) гена HNMT проводили методом ПЦР-ПДРФ. Последователь-

САВЕЛЬЕВА Ольга Николаевна – аспирант БашГУ, olyasavelie@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9690-1481; **КАРУНАС Александра Станиславовна** – д.б.н., к.м.н., проф. РАО, и.о. зам. директора по научной работе ИБГ Уфимского ФИЦ РАН, проф. Башкирского ГМУ, с.н.с. СПбГУ, ORCID: 0000-0002-2570-0789; **ФЕДОРОВА Юлия Юрьевна** – к.б.н., н.с. ИБГ Уфимского ФИЦ РАН, н.с. СПбГУ, fedorova-y@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9344-828X; **ГАТИЯТУЛЛИН Радик Фидагиевич** – д.м.н., проф. Башкирского ГМУ, radikfidagi@mail.ru; **ЭТКИНА Эсфирь Исааковна** – д.м.н., проф., зав. кафедрой Башкирского ГМУ, redkaf@rambler.ru; ORCID: 0000-0003-1371-7927; **ХУСНУТДИНОВА Эльза Камилевна** – д.б.н., проф., член-кор. РАО, директор ИБГ Уфимского ФИЦ РАН, гл.н.с. СПбГУ, ORCID: 0000-0003-2987-3334.

Таблица 1

Распределение частоты генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs1049793 гена *AOC1* и rs1801105 гена *HNMT* у больных БА и в контрольной группе

Полиморфный вариант / исследуемая группа		Генотип			Аллель		N
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>AOC1</i> (rs1049793)		CC	CG	GG	C	G	
Больные	Русские	46 (56,1) p=0,009 OR=2,36 (1,24-4,5)	29 (35,37)	7 (8,54)	121 (73,78) p=0,01 OR=1,86 (1,16-3,01)	43 (26,22) p=0,01 OR=0,54 (0,33-0,87)	82
	Татары	48 (44,86)	45 (42,06)	14 (13,08)	141 (65,89)	73 (34,11)	107
	Башкиры	11 (25,0)	24 (54,55)	9 (20,45)	46 (52,27)	42 (47,73)	44
Контроль	Русские	26 (35,14)	37 (50,0)	11 (14,86)	89 (60,14)	59 (39,86)	74
	Татары	35 (43,21)	41 (50,62)	5 (6,17)	111 (68,52)	51 (31,48)	81
	Башкиры	15 (41,67)	15 (41,67)	6 (16,67)	45 (62,50)	27 (37,5)	36
<i>HNMT</i> (rs1801105)		CC	CT	TT	C	T	
Больные	Русские	66 (78,57)	15 (17,86)	3 (3,57)	147 (87,5)	21 (21,15)	84
	Татары	76 (72,38)	29 (27,62)	-	181 (86,19)	29 (13,81)	105
	Башкиры	31 (70,45)	12 (27,27)	1 (2,27)	74 (84,09)	14 (15,91)	44
Контроль	Русские	58 (78,38)	13 (17,57)	3 (4,05)	129 (87,16)	19 (12,84)	74
	Татары	67 (81,71)	15 (18,29)	-	149 (90,85)	15 (9,15)	82
	Башкиры	30 (83,33)	6 (16,67)	-	66 (91,67)	6 (8,33)	36

Примечание. В табл. 1-2 N – число индивидов; n – численности групп, в скобках – частоты 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).

ности праймеров, размеры амплифицируемых фрагментов, названия рестриктаз описаны ранее [7]. Для парного сравнения частоты встречаемости генотипов и аллелей у больных БА и в контрольной группе применен критерий χ^2 для таблиц сопряженности 2x2. При наличии статистически значимых отличий между сравниваемыми выборками проведена оценка показателя отношения шансов (Odds Ratio, OR) и границ 95% доверительного интервала OR (CI 95%).

Результаты и обсуждение. Проведено исследование распределения частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs1049793 гена аминоксидазы *AOC1* и rs1801105 гена гистамин-N-метилтрансферазы *HNMT* у детей с БА и здоровых индивидов различной этнической принадлежности, проживающих в РБ (табл.1). Распределение частоты генотипов указанных полиморфных локусов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (p>0,05).

Ген аминоксидазы 1 *AOC1* локализован в хромосомной области 7q36.1 и содержит 10 экзонов. По результатам анализа распределения частоты аллелей и генотипов полиморфного локуса rs1049793 гена *AOC1* нами обнаружены статистически значимые различия

Таблица 2

Распределение частоты генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs1049793 гена *AOC1* и rs1801105 гена *HNMT* у больных БА с различными показателями функции внешнего дыхания и в контрольной группе

Полиморфный вариант / исследуемая группа		Генотип			Аллель		N
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>AOC1</i> (rs1049793)		CC	CG	GG	C	G	
Больные БА русской этнической принадлежности	ОФВ ₁ более 78,1%	9(60)	5(33,33)	1 (6,67)	24(80)	6(20)	15
	ОФВ ₁ 56,5-78,1%	3	-	4	6	8	7
	ОФВ ₁ менее 56,5%	18(58,06) p=0,03, OR=2,56, (1,08-6,03)	11(35,48)	2(6,45)	47(75,81) p=0,03, OR=2,08, (1,07-4,05)	15(24,19)	31
	МОС ₂₅ более 71,7%	13(65)	6(30)	1(5)	32(80)	8(20)	20
	МОС ₂₅ 37,7-71,7%	6(54,55)	4(36,36)	1(9,09)	16(72,73)	6(27,27)	11
	МОС ₂₅ менее 37,7%	18(58,06) p=0,03, OR=2,56, (1,08-6,03)	11(35,48)	2(6,45)	47(75,81) p=0,03, OR=2,08, (1,07-4,05)	15(24,19)	31
Контрольная группа русской этнической принадлежности		26 (35,14)	37 (50,0)	11 (14,86)	89 (60,14)	59 (39,86)	74
<i>HNMT</i> (rs1801105)		CC	CT	TT	C	T	
Больные БА татарской этнической принадлежности	МОС ₂₅ более 71,7	35(89,74)	4(10,26)	-	74(94,87)	4(5,13)	39
	МОС ₂₅ 37,7-71,7	6	3	-	15	3	9
	МОС ₂₅ менее 37,7%	14(51,85) p=0,002, OR=0,24, (0,09-0,62)	13(48,15) p=0,002, OR=4,15, (1,62- 10,62)	-	41(75,93) p=0,004, OR=0,32, (0,14-0,72)	13(24,07) p=0,004, OR=3,15, (1,39- 7,14)	27
Контрольная группа татарской этнической принадлежности		67 (81,71)	15 (18,29)	-	149 (90,85)	15 (9,15)	82

между выборками больных БА и контроля у русских. Установлена ассоциация генотипа rs1049793*CC и аллеля rs1049793*С гена *AOC1* с риском развития БА у русских ($p=0,009$, $OR=2,36$, $95\%CI$ 1,24-4,5 и $p=0,01$, $OR=1,86$, $95\%CI$ 1,16-3,01 соответственно) (табл.1). При сравнительном анализе частоты аллелей и генотипов данного полиморфного варианта в группах пациентов с различными показателями спирографии у русских обнаружена ассоциация генотипа rs1049793*CC и аллеля rs1049793*С гена *AOC1* со значительным снижением показателей объема форсированного выдоха за 1 с ($ОФВ_1$) ($p=0,03$, $OR=2,56$, $95\%CI$ 1,08-6,03 и $p=0,03$, $OR=2,08$, $95\%CI$ 1,07-4,05), значительным снижением показателей мгновенной объемной скорости при выдохе 25% ($МОС_{25}$) ($p=0,03$, $OR=2,56$, $95\%CI$ 1,08-6,03 и $p=0,03$, $OR=2,08$, $95\%CI$ 1,07-4,05) (табл.2). По данным литературы, установлена ассоциация генотипа rs1049793*CC гена *AOC1* с более высокими значениями показателей максимального эффекта ответа на гистамин по сравнению с исходным уровнем (E_{max}) в группе детей с БА [4]. В работе Szczepankiewicz с соавт., напротив, не обнаружено ассоциаций между полиморфными локусами гена *AOC1* и БА [8].

Ген гистамин-N-метилтрансферазы *HNMT* расположен на участке хромосомы 2q22.1, содержит 9 экзонов. При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1801105 гена *HNMT* нами не выявлено статистически значимых различий между выборкой детей с БА и контрольной группой из РБ ($p>0,05$) (табл. 1). Обнаружена более высокая частота встречаемости гетерозигот-

ного генотипа rs1801105*СТ и аллеля rs1801105*Т гена *HNMT* у больных БА татарской этнической принадлежности со значительным снижением показателей $МОС_{25}$ (48,15 и 24,07%), по сравнению с соответствующей контрольной группой детей (18,29%, $p=0,002$, $OR=4,15$, $95\%CI$ 1,62-10,62 и 9,15%, $p=0,004$, $OR=3,15$, $95\%CI$ 1,39-7,14) (табл. 2). По литературным данным, выявлена ассоциация аллеля rs1801105*Т с риском развития БА у детей [8], с риском развития тяжелой формы АР [3]. Не обнаружено ассоциации rs1801105 гена *HNMT* с риском развития БА у индивидов европейского происхождения [7].

Заключение. Таким образом, в результате проведенного исследования установлена ассоциация генотипа rs1049793*CC и аллеля rs1049793*С гена *AOC1* с риском развития БА, со значительным снижением показателей $ОФВ_1$ и $МОС_{25}$ у русских. Выявлена ассоциация генотипа rs1801105*СТ и аллеля rs1801105*Т гена *HNMT* со сниженными значениями $МОС_{25}$ у татар. Результаты данной работы раскрывают определенные аспекты молекулярного патогенеза БА, что может быть в дальнейшем востребовано для персонализации лечения больных БА.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116020350032-1), проекта ФЦП № 05.621.21.0033 с использованием оборудования РЦКП «Агидель», при частичной поддержке грантов РФФИ (проект № 19-315-90055) и Санкт-Петербургского государственного университета (ID гранта 60238366/ID проекта 60257092).

Литература

1. Кучер А.Н. Гены гистаминового метаболического пути и многофакторные заболевания человека / А.Н. Кучер, Н.А. Черевко // Генетика. – 2018. – Т. 54, № 10. – С. 15-32.
2. Kucher A.N. Genes of the Histamine Pathway and Common Diseases / A.N. Kucher, N.A. Cherevko // Russian Journal of Genetics. – 2018. – Vol. 54 (10). – P. 15-32. (in Russ.) DOI: 10.7868/S0016675818010083
3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики» / Под ред. А.Г. Чучалина. 5-е изд. - М: Оригинал-макет, 2017. - 160 с.
4. National program "Bronchial asthma in children. Treatment strategy and prevention". Chuchalin A.G. (Ed.). 5th ed. M: Original maket. 2017. 160 s. (in Russ.)
5. Association between two polymorphisms of histamine-metabolising enzymes and the severity of allergic rhinitis in a group of Mexican children / R. Meza-Velázquez, F. López-Márquez, S. Espinosa-Padilla [et al.] // Allergol. Immunopathol. (Madr). – 2016. – Vol. 44(5). – P. 433-8. DOI: 10.1016/j.aller.2016.01.002
6. Genetic variation in the histamine production, response, and degradation pathway is associated with histamine pharmacodynamic response in children with asthma / B.L. Jones, C.M.T. Sherwin, X. Liu [et al.] // Front. Pharmacol. – 2017. – Vol. 7. – P. 524. DOI: 10.3389/fphar.2016.00524
7. Genetic variation within the histamine pathway among patients with asthma / N. Rajee, C.A. Vyhldal, H. Dai [et al.] // J. Asthma. – 2015. – Vol. 52(4). – P. 353-362. DOI: 10.3109/02770903.2014.973501
8. Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Updated 2020. – P. 1-209.
9. Polymorphisms of histamine-metabolizing enzymes and clinical manifestations of asthma and allergic rhinitis / E. García-Martín, J. García-Menaya, B. Sánchez [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2007. – Vol. 37(8). – P. 1175-1182. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2007.02769.x
10. Polymorphisms of two histamine-metabolizing enzymes genes and childhood allergic asthma: a case control study / A. Szczepankiewicz, A. Breborowicz, P. Sobkowiak [et al.] // Clin. Mol. Allergy. – 2010. – Vol. 8. – P. 14. DOI: 10.1186/1476-7961-8-14