

УДК 575.174.015.3:616.248

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА rs7216389 ГЕНА GSDMB С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ЕЕ ОСЛОЖНЕНИЙ

Мухаммадиева Г.Ф.¹, Каримов Д.О.¹, Кутлина Т.Г.¹, Валова Я.В.¹, Бакиров А.Б.^{1,2},
Идиятуллина Э.Ф.¹, Борисова А.И.¹

¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия,

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава
России, Уфа, Россия

Бронхиальная астма (БА) относится к клинически гетерогенным многофакторным заболеваниям с существенной наследственной компонентой в этиологии, которая до конца не установлена. Цель настоящего исследования состояла в анализе ассоциации полиморфного локуса rs7216389 гена GSDMB с развитием БА и нарушениями функции внешнего дыхания (ФВД) у больных БА. Проведено обследование 200 больных БА с различной степенью тяжести ФВД и 147 практически здоровых лиц. Для анализа полиморфизма исследуемого гена использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Нами не выявлены статистически значимые различия в распределении генотипов и аллелей полиморфного локуса rs7216389 гена GSDMB между больными БА и лицами контрольной группы. Наряду с этим, установлено, что в группе больных с нарушениями ФВД II-III степени аллель Т встречается чаще по сравнению с группой больных с нарушениями ФВД 0-I степени (59,69% и 49,02%, соответственно; $p=0,041$). Можно предположить, что носительство аллеля Т обуславливает повышенный риск развития более тяжелых нарушений ФВД у больных БА ($OR=1,54$; 95% CI 1,04-2,29). Полученные результаты могут быть использованы в прогностических целях для оценки перспектив развития осложнений заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма, осложнения, нарушения функции внешнего дыхания, гены, полиморфизм

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

STUDY OF ASSOCIATION BETWEEN POLYMORPHIC LOCUS rs7216389 OF GSDMB GENE AND THE DEVELOPMENT OF BRONCHIAL ASTHMA AND ITS COMPLICATIONS

Mukhammadiyeva G.F.¹, Karimov D.O.¹, Kutlina T.G.¹, Valova Ya. V.¹, Bakirov A.B.^{1,2},
Idiyatullina E.F.¹, Borisova A.I.¹

¹Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia,

²Bashkirian State Medical University of the Russian Health Ministry, Ufa, Russia

Bronchial asthma is a clinically heterogeneous multifactorial disease with a significant hereditary component in etiology, which is not fully established. The purpose of this study was to analyze the association between polymorphic locus rs7216389 of the GSDMB gene and the development of bronchial asthma (BA) and impaired respiratory function (RF) in

patients with BA. Two hundred patients with asthma with varying severity of RF and 147 healthy individuals were examined. For the analysis of the polymorphism of the studied gene, the polymerase chain reaction (PCR) method with fluorescence detection in real time was used. The study did not reveal statistically significant differences in the distribution of genotypes and alleles of the polymorphic locus rs7216389 of the GSDMB gene between patients with asthma and control subjects. Along with this, it was found that in the group of patients with impaired RF of grade II-III, the T allele is more common than in the group of patients with impaired RF, grade 0-I (59.69% and 49.02%, respectively; $p=0,041$). It can be assumed that the carriage of the T allele causes an increased risk of the development of more severe impaired RF in patients with BA (OR=1,54; 95% CI 1,04-2,29). The results can be used in prognostic purposes to assess the prospects for the development of complications of the disease.

Key words: bronchial asthma, complications, impaired respiratory function, genes, polymorphism

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Бронхиальная астма (БА) – одно из наиболее распространенных хронических воспалительных заболеваний бронхолегочной системы. Около 300 миллионов человек в разных странах страдают от астмы и около 250 тысяч человек умирают ежегодно. В основе патогенеза БА лежит хроническое аллергическое воспаление и гиперреактивность бронхов с формированием обратимой бронхиальной обструкции. Длительно протекающий воспалительный процесс приводит к прогрессирующему стойкому ограничению вентиляционной функции легких с развитием дыхательной недостаточности, что является основной причиной инвалидизации и смерти пациентов [3, 17].

Постоянный прирост заболеваемости БА во всем мире делает актуальными исследования по изучению факторов, способствующих формированию этого заболевания. Важная роль в этиопатогенезе БА отводится наследственной предрасположенности, то есть генетическим факторам. Наиболее перспективными являются исследования, которые направлены на выявление генов, связанных с развитием болезни, особенностями ее течения и риском развития осложнений. На сегодняшний день описаны ассоциации полиморфизма многих генов с БА [1, 6], отмечено влияние различных вариантов генов на течение заболевания [4, 5].

В последнее время из генов-кандидатов БА внимание привлекает ген *GSDMB*, кодирующий гасдермин В. *GSDMB* является членом семейства гасдерминдомен-содержащих белков, состоящим из 411 аминокислот [10]. К данному семейству принадлежат четыре белка, которые принимают участие в различных клеточных процессах, связанных с развитием и прогрессией опухолей. Впервые они были обнаружены в верхних отделах ЖКТ и эпидермисе, позднее установлена их экспрессия в лимфоцитах, кишечнике, печени, легких, мышцах, мозге, матке и других органах [14, 18]. Ген *GSDMB* локализован на 17 хромосоме в регионе 17q12–q21. Известен однонуклеотидный полиморфизм rs7216389 (3621C>T), который расположен в интроне 1 гена *GSDMB*. Механизм ассоциации полиморфного варианта гена *GSDMB* с БА пока не изучен до конца, но предполагается, что этот ген участвует в регуляции клеточной дифференциации, клеточного цикла и экспрессии генов цитокинов, в том числе

провоспалительных, играющих важную роль в патогенезе БА. Показана важная роль полиморфизма гена *GSDMB* в формировании БА у детей [16].

Целью настоящего исследования было изучение ассоциации полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* с развитием БА и нарушениями функции внешнего дыхания (ФВД) у больных БА

Материал и методы исследования. Обследовано 200 больных БА, жителей Республики Башкортостан, в возрасте от 18 до 60 лет. Все пациенты были разделены на две группы в зависимости от степени нарушений ФВД. В первую вошли 102 пациента с нарушениями ФВД 0-I степени, во вторую группу – 98 человек, у которых имелись нарушения ФВД II-III степени. Контрольную группу составили 147 практически здоровых лиц, не имеющих хронической бронхолегочной патологии и аллергических заболеваний в анамнезе. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Материалом для генетического исследования послужили образцы ДНК, выделенные из периферической крови пациентов стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. Определение полиморфных вариантов исследуемого гена проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Для генотипирования полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* были использованы олигонуклеотидные праймеры:

GSDMB-F (5'-TCAGAACCAAGGCCCTTATTA-3'),

GSDMB-R (5'-TCTGTCGCTGTTGTTGTATG-3').

Для детекции накопления аллелей в реальном времени были использованы олигонуклеотидные пробы, меченные флуорофором и гасителем:

GSDMB-A (5'-(FAM)-CCGAGTCCATGCATGTTTGTGACT-(RTQ-1)-3'),

GSDMB-G (5'-(Cy5)-CCGAGTCCATGCGTGTGTTTGTGACT-(BHQ-3)-3').

Статистический анализ осуществлялся с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в исследуемых группах применялся критерий χ^2 . Различия принимались как статистически значимые при $p < 0,05$. Для оценки силы ассоциаций проводился расчет показателя отношения шансов (OR), а также границ его 95%-ного доверительного интервала (95%CI).

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* в выборках больных БА и здоровых индивидов контрольной группы не выявил статистически значимых различий ($p > 0,05$) (табл. 1). В группе больных БА аллель Т встречался с частотой 54,75%, в контрольной группе – со сходной частотой 50,68%. При этом, в выборке больных отмечено увеличение доли гомозиготного генотипа ТТ на фоне повышения частоты гетерозиготного генотипа СТ в группе контроля, однако различия не достигли статистической значимости ($\chi^2=1,83$, $p=0,176$ и $\chi^2=1,50$, $p=0,222$, соответственно).

Таблица 1
Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs7216389 гена GSDMB в выборке больных БА и группе контроля

Генотипы и аллели	БА		Контроль		χ^2	р	OR (95%CI)
	абс.	%	абс.	%			
ТТ	62	31,00	35	23,81	1,83	0,176	1,44 (0,89-2,33)
СТ	93	46,50	79	53,74	1,50	0,222	0,75 (0,49-1,15)
СС	45	22,50	33	22,45	0,01	0,906	1,00 (0,60-1,67)
Т	217	54,75	149	50,68	0,73	0,394	1,15 (0,85–1,56)
С	400	45,36	145	49,32	0,73	0,394	0,87 (0,64–1,17)

При разделении больных БА по степени тяжести нарушений ФВД обнаружены статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* (табл. 2). Так, частота аллеля Т у больных БА с нарушениями ФВД II-III степени оказалась выше (59,69%), чем в группе больных с нарушениями ФВД 0-I степени (49,02%; $\chi^2=4,17$, $p=0,041$). Показатель отношения шансов (OR) для аллеля Т полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* составил 1,54 (95% CI 1,04-2,29). Можно предположить, что носители аллеля Т, страдающие БА, имеют повышенный риск развития более тяжелых нарушений ФВД. Установлено также, что гомозиготный генотип СС встречался в 2 раза чаще у пациентов с нарушениями ФВД 0-I степени с БА (29,41%), чем у больных с более выраженными нарушениями ФВД (15,31%; $\chi^2=4,92$, $p=0,027$).

Таблица 2
Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs7216389 гена GSDMB у больных с разной степенью нарушений ФВД

Генотипы и аллели	Нарушения ФВД II-III степени		Нарушения ФВД 0-I степени		χ^2	р	OR (95%CI)
	абс.	%	абс.	%			
ТТ	34	34,69	28	27,45	0,91	0,341	1,40 (0,77-2,56)
СТ	49	50,00	44	43,14	0,69	0,407	1,32 (0,76-2,30)
СС	15	15,31	30	29,41	4,92	0,027	0,43 (0,22-0,87)
Т	117	59,69	100	49,02	4,17	0,041	1,54 (1,04–2,29)
С	79	40,31	104	50,98	4,17	0,041	0,65 (0,44–0,97)

К настоящему времени результаты анализа ассоциаций полиморфных локусов, расположенных в области 17q12–q21, с БА представлены в работах многих авторов. В большинстве исследований в различных популяциях наиболее значимую ассоциацию с БА показал полиморфный локус rs7216389 гена *GSDMB*. Имеются данные о связи носительства аллеля Т полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* с БА у жителей Волго-Уральского региона и у подростков-бурят, проживающих в Забайкальском крае [2, 7]. В азиатских популяциях также обнаружена статистически значимая ассоциация данного полиморфизма с atopической БА у детей [15, 20].

В нашем исследовании не выявлено взаимосвязи полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* с развитием БА у взрослых, что согласуется с данными ряда зарубежных авторов [8, 11, 19]. Однако, установлены статистически значимые различия частот аллелей и генотипов изучаемого полиморфизма среди больных БА с разной степенью нарушений ФВД. Так, частота аллеля Т превалировала в группе больных БА с нарушениями ФВД II-III степени по сравнению с больными с нарушениями ФВД 0-I степени. Сходная тенденция к увеличению частоты аллеля повышенного риска в группах с тяжелым течением БА и обострением заболевания обнаружена и в других исследованиях [9, 12, 13].

Выводы. Полученные данные позволяют сделать предположение, что носительство аллеля Т полиморфного локуса rs7216389 гена *GSDMB* можно рассматривать как маркер повышенного риска развития нарушений ФВД у больных БА. Выявление наличия аллеля Т данного локуса может быть использовано для формирования групп риска развития осложнений БА и эффективного планирования профилактических мероприятий. Вышеизложенное свидетельствует о необходимости дальнейших исследований генетических механизмов развития БА для оценки индивидуальной предрасположенности конкретного больного к развитию заболевания.

Список литературы:

- 1 Генетика бронхиальной астмы и атопии / В.М. Делягин, Е.Е. Аракчеева, А. Уразбагамбетов, Ю.И. Будчанов // Медицинский совет. – 2012. – № 5. – С. 33–39.
- 2 Генетические особенности у больных с бронхиальной астмой и у здоровых подростков бурятской популяции. II. Анализ полиморфных вариантов гена *GSDMB* и межгенных взаимодействий / Б.Ц. Батожаргалова, Н.В. Петрова, Е.Е. Тимковская и др. // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2013. – Т.11, № 2. – С. 91–98.
- 3 Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2014 г.) / пер. с англ.; под ред. А.С. Белевского. – М.: Российское респираторное общество, 2015. – 148 с.
- 4 Изучение полиморфизма генов цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-17А и TNFA у больных с инфекционно-зависимой бронхиальной астмой / Е.М. Костина, Б.А. Молотилов, О.А. Левашова, М.В. Осипова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2013. – № 1. – С. 53–58.
- 5 Комплексный анализ полиморфизма генов NOS1, NOS3, TNFA у больных бронхиальной астмой / Ю.В. Останкова, Т.Э. Иващенко, Н.А. Келембет и др. // Молекуляр. медицина. – 2008. – №1. – С. 24–29.
- 6 Некоторые молекулярно-генетические аспекты этиопатогенеза atopической бронхиальной астмы / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, О.В. Лаврова, Г.Б. Федосеев // Мед. генетика. – 2008. – Т. 7, № 10. – С. 3–13.
- 7 Полногеномный анализ ассоциации бронхиальной астмы в Волго-Уральском регионе России / А.С. Карунас, Б.Б. Юнусбаев, Ю.Ю. Федорова и др. // Молекулярная биология. – 2011. – Т. 45, № 6. – С. 992 – 1003.

- 8 17q21 gene variation is not associated with asthma in adulthood / E. Kreiner-Møller, D.P. Strachan, A. Linneberg et al. // *Allergy*. – 2015. – Vol. 70, № 1. – P. 107–114.
- 9 A sequence variant on 17q21 is associated with age at onset and severity of asthma / E. Halapi, D.F. Gudbjartsson, G.M. Jonsdottir et al. // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2010. – Vol. 18, № 8. – P. 902–908.
- 10 Allele-specific chromatin remodeling in the ZBP2/GSDMB/ORMDL3 locus associated with the risk of asthma and autoimmune disease / D.J. Verlaan, S. Berlivet, G.M. Hunninghake et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 2009. – Vol. 85, № 3. – P. 377–93.
- 11 Association Between Gasdermin A and Gasdermin B Polymorphisms and Susceptibility to Adult and Childhood Asthma Among Jordanians / M. Zihlif, N.M. Obeidat, N. Zihlif et al. // *Genet Test Mol Biomarkers*. – 2016. – Vol. 20, № 3. – P. 143–148.
- 12 Chromosome 17q21 gene variants are associated with asthma and exacerbations but not atopy in early childhood / H. Bisgaard, K. Bønnelykke, M.A. Sleiman et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 179, № 3. – P. 179–85.
- 13 Chromosome 17q21 SNP and severe asthma / A.D. Binia, N. Khorasani, P.K. Bhavsar et al. // *J. Hum. Genet.* – 2011. – Vol. 56, № 1. – P. 97–98.
- 14 Differential expression and localisation of gasdermin-like (GSDML), a novel member of the cancer-associated GSDMDC protein family, in neoplastic and nonneoplastic gastric, hepatic, and colon tissues / S. Carl-McGrath, R. Schneider-Stock, M. Ebert, C. Röcken // *Pathology*. – 2008. – Vol. 40, № 1. – P. 13–24.
- 15 Genetic polymorphism regulating ORM1-like 3 (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population / T. Hirota, M. Harada, M. Sakashita et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 121, № 3. – P. 769–770.
- 16 Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma / M.F. Moffatt, M. Kabesch, L. Liang, et al. // *Nature*. – 2007. – Vol. 448. – P. 470–473.
- 17 Global Initiative for Asthma (GINA) Teaching slide set 2018 update / Mode of access: <http://ginasthma.org/>. – Data of access: 10.10.2018.
- 18 Members of a novel gene family, Gsdm, are expressed exclusively in the epithelium of the skin and gastrointestinal tract in a highly tissue-specific manner / M. Tamura, S. Tanaka, T. Fujii et al. // *Genomics*. – 2007. – Vol. 89, № 5. – P. 618–29.
- 19 Miyake Y. Association between 17q12-21 variants and asthma in Japanese women: rs11650680 polymorphism as potential genetic marker for asthma / Y. Miyake, K. Tanaka, M. Arakawa // *DNA Cell Biol.* – 2014. – Vol. 33, № 8. – P. 531–536.
- 20 Variants in the 17q21 asthma susceptibility locus are associated with allergic rhinitis in the Japanese population / K. Tomita, M. Sakashita, T. Hirota et al. // *Allergy*. – 2013. – Vol. 68, № 1. – P. 92–100.

Поступила/Received: 25.10.2018

Принята в печать/Accepted: 08.11.2018