

Исследование полиморфных вариантов и уровня метилирования генов, участвующих в метаболизме глюкокортикостероидов, у больных бронхиальной астмой и здоровых индивидов

Федорова Ю.Ю.^{1,4}, Карунас А.С.^{1,2,4}, Савельева О.Н.², Гималова Г.Ф.¹, Мурзина Р.Р.³, Гатиятуллин Р.Ф.³, Эткина Э.И.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2,4}

- 1 — Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 71
- 2 — ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32
- 3 — ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3
- 4 — ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7-9

Проведен поиск генетических и эпигенетических маркеров риска развития бронхиальной астмы (БА) и чувствительности к терапии глюкокортикостероидами (ГКС) у индивидов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности. Установлено, что полиморфные варианты генов, участвующих в метаболизме ГКС (*NR3C1*, *CRHR1*, *GLCC11*, *TBXT*, *FBXL7*), влияют на особенности развития и течения БА. При анализе статуса метилирования гена глюкокортикоид-индуцированного транскрипта 1 *GLCC11* обнаружен повышенный уровень метилирования промоторной области гена *GLCC11* у больных БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гены, участвующие в метаболизме глюкокортикостероидов, ассоциация, метилирование

Для цитирования: Федорова Ю.Ю., Карунас А.С., Савельева О.Н., Гималова Г.Ф., Мурзина Р.Р., Гатиятуллин Р.Ф., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Исследование полиморфных вариантов и уровня метилирования генов, участвующих в метаболизме глюкокортикостероидов, у больных бронхиальной астмой и здоровых индивидов. *Медицинская генетика* 2020; 19(8): 95-97.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.95-97

Авторы для корреспонденции: Федорова Юлия Юрьевна; e-mail: fedorova-y@yandex.ru, Карунас Александра Станиславовна; e-mail: carunas@list.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 17-04-02195 и № 19-31-590055. Образцы ДНК для исследования использованы из «Коллекции биологических материалов человека» ИБГ УФИЦ РАН (Программа биоресурсных коллекций ФАНО России, № 007-030164/2).

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Study of polymorphisms and the methylation status of genes involved in glucocorticosteroid metabolism in patients with asthma and healthy individuals

Fedorova Yu.Yu.^{1,4}, Karunas A.S.^{1,2,4}, Savelieva O.N.², Gimalova G.F.¹, Murzina R.R.³, Gatiyatullin R.F.³, Etkina E.I.³, Khusnutdinova E.K.^{1,2,4}

- 1 — Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 71, Pr. Oktyabrya, Ufa, 450054, Russia
- 2 — Bashkir State University 32, Zaki Validi street, Ufa, 450076, Russia
- 3 — Bashkir State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation 3, Lenina street, Ufa, 450008, Russia
- 4 — St Petersburg University Universitetskaya Emb. 7-9, St Petersburg 199034, Russia

The search for genetic and epigenetic markers of the risk asthma and sensitivity to glucocorticosteroid therapy (GCs) in Russians, Tatars and Bashkirs was performed. It was established that polymorphic variants of genes involved in the metabolism of GCs (*NR3C1*, *CRHR1*, *GLCC11*, *TBXT*, *FBXL7*) affect the features of the development and course of asthma. An analysis of the methylation status

of the glucocorticoid-induced transcript 1 *GLCC1* gene revealed an increased level of methylation of the promoter region of the *GLCC1* gene in asthma patients.

Keywords: bronchial asthma, genes involved in glucocorticosteroid metabolism, association, methylation

For citation: Fedorova Yu.Yu., Karunas A.S., Savelieva O.N., Gimalova G.F., Murzina R.R., Gatiyatullin R.F., Etkina E.I., Khusnutdinova E.K. Study of polymorphisms and the methylation status of genes involved in glucocorticosteroid metabolism in patients with asthma and healthy individuals. *Medical genetics*. 2020; 19(8): 95-97 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.95-97

Corresponding authors: Fedorova Yuliya Yurievna; **e-mail:** fedorova-y@yandex.ru, Karunas Alexandra Stanislavovna; **e-mail:** carunas@list.ru

Funding. The present study was partially supported by the Russian Foundation for Basic Research (№ 17-04-02195 and № 19-31-590055).

DNA samples used in the study were provided by the Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the RAS from the «Collection of Human Biological Materials», supported by the Federal Agency for Scientific Organizations for support of bioresource collections (№ 007-030164/2).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Бронхиальная астма (БА) является одним из наиболее распространенных тяжелых и инвалидизирующих многофакторных заболеваний. Актуальность фармакогенетических исследований БА объясняется наблюдаемой гетерогенностью ответа пациентов на терапию и наличием пациентов с резистентными к терапии тяжелыми формами заболевания. Установлено, что генетическая предрасположенность на 60–80% определяет индивидуальную вариабельность в эффективности терапии пациентов определенными группами препаратов [1,2].

Целью настоящего исследования явился анализ ассоциаций полиморфных вариантов и уровня метилирования генов, участвующих в метаболизме глюкокортикостероидов (ГКС), с риском развития БА у индивидов, проживающих в Республике Башкортостан.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы ДНК детей, больных БА (N=350), и индивидов контрольной группы (N=287) русской, татарской и башкирской этнической принадлежности. Генотипирование выполнено методом ПЦР в реальном времени. Геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови, была подвергнута бисульфитной конверсии с использованием набора Zymo Research EZ DNA Methylation-Gold Kit (США). Праймеры для анализа статуса метилирования промоторной области гена *GLCC1* подобраны с помощью программы Methyl Primer Express Software v1.0 (США). MS-HRM проводили с использованием ПЦР-смеси MeltDoctor HRM Master mix (США). Для получения кривых плавления калибровочных стандартов использовали подвергнутые бисульфитной конверсии образцы полностью метилированной и неметилированной ДНК Human Methylated & Non-methylated DNA Set (США) (100%) и (0%). Полученные результаты подтверждали секвенированием

по методу Сэнгера (ABI PRISM 3500, США). Статистический анализ осуществляли с помощью программы SPSS v.23 (SPSS Inc.).

Результаты и обсуждение

Выполнено исследование полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме ГКС (*NR3C1* (rs41423247), *CRHR1* (rs242939, rs1876828, rs242941), *TBX21* (rs2240017), *GLCC1* (rs37973), *TBXT* (rs2305089), *FBXL7* (rs10044254), *ALLC* (rs11123610), *MAGI2* (rs2691529)), у больных БА и в контрольной группе индивидов. Проведен анализ ассоциаций исследованных полиморфных вариантов генов с развитием БА, тяжестью и уровнем контроля заболевания, данными функциональных методов исследования и АСТ-теста (Asthma Control Test). Установлено, что генотип rs41423247*CG полиморфного варианта rs41423247 гена глюкокортикостероидного рецептора *NR3C1* ассоциирован со значительным снижением параметров спирографии (ЖЕЛ, ОФВ1, МОС25 и МОС50) у больных БА. Установлена ассоциация аллеля rs1876828*Т полиморфного варианта rs1876828 гена кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* и аллеля rs37973*G полиморфного варианта rs37973 гена глюкокортикоид-индуцированного транскрипта 1 *GLCC1* со сниженными показателями МОС50 (мгновенная объемная скорость при выдохе 50% ФЖЕЛ).

При разделении выборки по этнической принадлежности обнаружено, что генотип rs41423247*CG гена *NR3C1* и аллель rs37973*G гена *GLCC1* являются маркерами повышенного риска развития БА у татар. Выявлено, что для башкир маркерами повышенного риска развития БА являются генотип rs242941*СА полиморфного варианта rs242941 гена *CRHR1*, гаплотип АА (rs242939, rs242941) гена *CRHR1* и аллель rs2305089*Т полиморфного варианта rs2305089 гена транскрипционного фактора *TBXT*. Установлена ассоциация гено-

типа rs10044254*AA полиморфного варианта rs10044254 гена белка, содержащего лейцин-богатые повторы и F-бокс домен *FBXL7* со значительно сниженными показателями МОС25 у русских с БА.

Гиперметилирование промоторной области гена *GLCC11* обнаружено у 8 человек из 122 больных БА (6,55%), не выявлено заметно повышения уровня метилирования гена *GLCC11* у индивидов из контрольной группы (0%; $p=0,02$; OR=15,1; 95% CI 0,86–264). Обнаружено, что больные БА с повышенным уровнем метилирования гена *GLCC11* получали более низкую суточную дозу ГКС ($M \pm S.E.$: $112,5 \pm 43,04$), по сравнению с больными БА с низким уровнем метилирования гена *GLCC11* ($201,3 \pm 18,53$; $p=0,11$). Проведенный нами анализ вариабельности показателей спирографии у пациентов с повышенным уровнем метилирования гена *GLCC11* выявил более низкие показатели объема форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ1) ($p=0,04$, $47,88 \pm 5,40$) по сравнению с больными БА с низким уровнем метилирования гена ($68,46 \pm 3,41$). У больных БА с повышенным уровнем метилиро-

вания гена *GLCC11* были также выявлены более низкие показатели МОС25 ($p=0,006$; $21,29 \pm 2,92$) и МОС50 ($p=0,04$; $39,29 \pm 4,37$) в сравнении с пациентами с низким уровнем метилирования гена (МОС25: $60,65 \pm 4,13$; МОС50: $64,25 \pm 3,51$).

Таким образом, установлена роль полиморфных вариантов генов *NR3C1*, *CRHR1*, *GLCC11*, *TBX1*, *FBXL7* в развитии и течении БА, а также в чувствительности к терапии ГКС у пациентов с БА. При анализе статуса метилирования гена глюкокортикоид-индуцированного транскрипта 1 *GLCC11* обнаружен повышенный уровень метилирования промоторной области гена *GLCC11* у больных БА, что свидетельствует о роли гена *GLCC11* в развитии данной патологии.

Литература/ References

1. Isidoro-García M., Sánchez-Martín A., García-Sánchez A. et al. Pharmacogenetics and the treatment of asthma. *Pharmacogenomics*. 2017; 18 (13): 1271–1280.
2. Farzan N., Vijverberg S.J., Arets H.G. et al. Pharmacogenomics of inhaled corticosteroids and leukotriene modifiers: a systematic review. *Clin Exp Allergy*. 2017; 47 (2): 271–293.