

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/YMJ.2020.72.05

УДК 616.248

Проведена оценка значимости полиморфных вариантов генов аминоксидазы *AOC1* 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 *AOC1* 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 *AOC1* и *HNMT* в развитии БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, полиморфный вариант, ген аминоксидазы *AOC1*, 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, AOC1) [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 *AOC1* 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 E (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, p.His664Asp) гена *AOC1* и rs1801105 (с.314C>T, p.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 Фидигиевич** – 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 попарного 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. Raje, C.A. Vyhlidal, 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