

Роль полиморфных вариантов генов аргиназ (*ARG1*, *ARG2*), участвующих в метаболизме бета-2-агонистов, в развитии и течении бронхиальной астмы

О.Н. Савельева¹, А.С. Карунас^{1, 2}, Ю.Ю. Федорова², Р.Р. Мурзина³, А.Н. Савельева¹, Р.Ф. Гатиятуллин³, Э.И. Эткина³, Э.К. Хуснутдинова^{2, 4}

¹ Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

² Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

³ Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Уфа, Россия

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

✉ e-mail: olyasavelie@yandex.ru, carunas@list.ru

Аннотация. Бронхиальная астма (БА) – широко распространенное тяжелое заболевание дыхательных путей, которое при недостаточно эффективном лечении приводит к значительному ухудшению качества жизни пациентов. Отсутствие контроля над симптомами БА ведет к быстрому прогрессированию, утяжелению заболевания и инвалидизации пациентов. Чувствительность к лекарственной терапии БА во многом зависит от взаимодействия генетических и эпигенетических факторов, которые на 50–60 % определяют вариабельность терапевтического ответа пациентов. Одной из основных групп препаратов, используемых для лечения БА, являются бета-2-агонисты, оказывающие значительное бронходилатирующее действие. По литературным данным, аллельные варианты генов аргиназ *ARG1* и *ARG2* ассоциированы с риском развития БА, показателями спирометрии и эффективностью терапии бронходилататорами. Повышенная экспрессия генов аргиназ ведет к снижению биодоступности L-аргинаина и уровня оксида азота в организме и, как следствие, к увеличению степени воспаления и ремоделирования дыхательных путей. Выполнено исследование полиморфных вариантов генов аргиназ (rs2781667 гена *ARG1* и rs17249437, rs3742879, rs7140310 гена *ARG2*) у 236 детей, больных БА, а также у 194 неродственных здоровых индивидов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности, проживающих на территории Республики Башкортостан. Проведен поиск ассоциаций изученных полиморфных вариантов с развитием, течением БА и чувствительностью к терапии у пациентов с БА. Установлено, что аллель rs2781667*С гена *ARG1* является маркером повышенного риска развития БА у татар. В группе русских пациентов с БА генотипы rs17249437*ТТ и rs3742879*GG гена *ARG2* ассоциированы со снижением показателей спирометрии (ОФВ1, МОС25). У русских и татар, находящихся на монотерапии ингаляционными глюкокортикостероидами или на комбинированной терапии, показана ассоциация аллеля rs17249437*Т и генотипа rs17249437*ТТ гена *ARG2* с частично контролируемым и неконтролируемым течением астмы. Ключевые слова: бронхиальная астма; бета-2-агонисты; аргиназа 1 (*ARG1*); аргиназа 2 (*ARG2*); ассоциация; гены предрасположенности.

Для цитирования: Савельева О.Н., Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Мурзина Р.Р., Савельева А.Н., Гатиятуллин Р.Ф., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Роль полиморфных вариантов генов аргиназ (*ARG1*, *ARG2*), участвующих в метаболизме бета-2-агонистов, в развитии и течении бронхиальной астмы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(4):391-398. DOI 10.18699/VJ20.631

The role of polymorphic variants of arginase genes (*ARG1*, *ARG2*) involved in beta-2-agonist metabolism in the development and course of asthma

O.N. Savelieva¹, A.S. Karunas^{1, 2}, Yu.Yu. Fedorova², R.R. Murzina³, A.N. Savelieva¹, R.F. Gatiyatullin³, E.I. Etkina³, E.K. Khusnutdinova^{2, 4}

¹ Bashkir State University, Ufa, Russia

² Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

³ Bashkir State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ufa, Russia

⁴ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

✉ e-mail: olyasavelie@yandex.ru, carunas@list.ru

Abstract. Asthma is a common severe disease of the respiratory tract, it leads to a significant impairment in the quality of a patient's life unless effectively treated. Uncontrolled asthma symptoms are a cause of disease progression and development, they lead to an increase in the patient's disability. The sensitivity to asthma therapy largely

depends on the interaction of genetic and epigenetic factors, which account for about 50–60 % of variability of therapeutic response. Beta-2-agonists are some of the major class of bronchodilators used for asthma management. According to published data, allelic variants of the arginase *ARG1* and *ARG2* genes are associated with a risk of asthma development, spirometry measures and efficacy of bronchodilator therapy. High arginase activity results in a low level of plasma L-arginine and in a decrease in nitric oxide, and, as a result, in an increase in airway inflammation and remodeling. Arginase genetic polymorphisms (rs2781667 of the *ARG1* gene, rs17249437, rs3742879, rs7140310 of the *ARG2* gene) were studied in 236 children with asthma and 194 unrelated healthy individuals of Russian, Tatar and Bashkir ethnicity from the Republic of Bashkortostan. Association analysis of the studied polymorphisms with asthma development and course, the sensitivity to therapy in patients was carried out. It was found that the rs2781667*C allele of the *ARG1* gene is a marker of an increased risk of asthma in Tatars. In Russians, the association of rs17249437*TT and rs3742879*GG genotypes of the *ARG2* gene with a decrease in spirometry measures (FEV1, MEF25) was established. In Russians and Tatars receiving glucocorticoid monotherapy or combination therapy, the association of the rs17249437*T allele and rs17249437*TT genotype of the *ARG2* gene with a partially controlled and uncontrolled course of asthma was shown.

Key words: asthma; beta-2-agonists; arginase 1 (*ARG1*); arginase 2 (*ARG2*); association; predisposition genes.

For citation: Savelieva O.N., Karunas A.S., Fedorova Yu.Yu., Murzina R.R., Savelieva A.N., Gatiyatullin R.F., Etkina E.I., Khusnutdinova E.K. The role of polymorphic variants of arginase genes (*ARG1*, *ARG2*) involved in beta-2-agonist metabolism in the development and course of asthma. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(4):391-398. DOI 10.18699/VJ20.631

Введение

Бронхиальная астма (БА) – гетерогенное хроническое заболевание дыхательных путей, в развитии которого принимают участие множество генетических и средовых факторов. Распространенность БА в мире составляет 1–18 %, при этом у значительной части пациентов отмечается недостаточная эффективность контроля БА (GINA, 2018). Одной из основных групп лекарственных препаратов, используемых при лечении БА, являются агонисты бета-2-адренорецепторов. Ингаляционные бета-2-агонисты быстрого действия представляют собой препараты выбора для купирования бронхоспазма при обострении БА. Бета-2-агонисты длительного действия при продолжительном применении пациентами оказывают противовоспалительное влияние вследствие снижения сосудистой проницаемости, уменьшения выделения медиаторов из тучных клеток и базофилов и снижения бронхиальной гиперреактивности (Национальная программа..., 2017).

По данным литературы, вклад генетических факторов в формирование индивидуальной чувствительности пациентов к лечению БА составляет около 50–60 % (Farzan et al., 2017). Обнаружено более 20 генов-кандидатов, ассоциированных с чувствительностью к терапии бета-2-агонистами (*ADRB2*, *CRHR2*, *ADCY9*, *ARG1*, *ARG2* и др.) (Martinez et al., 1997; Litonjua et al., 2008; Poon et al., 2008; Vonk et al., 2010; Kim et al., 2011; Федорова и др., 2013; Батожаргалова и др., 2017; Scarparrotta et al., 2019). Использование метода полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) и изучение больших по объему выборок в рамках международных консорциумов позволило значительно расширить число генов и межгенных полиморфных вариантов, ассоциированных с эффективностью терапии бронходилататорами (*COL22A1*, *SLC22A15*, *SLC22A23*, *OXR1*, *THRB*, *NTM* и др.) (www.genome.gwas.org).

Для наиболее изученного полиморфного варианта rs1042713 (с.46A > G, p.Arg16Gly) гена адренорецептора *ADRB2*, участвующего в метаболизме бета-2-агонистов, проведено клиническое исследование третьей стадии (Bateman et al., 2011), а на сайте PharmGB опубликована клиническая аннотация rs1042713 гена *ADRB2* уровня доказательности 2A, которая подтверждает практиче-

скую применимость результатов фармакогенетических исследований БА (<https://www.pharmgkb.org/gene/PA39/clinicalAnnotation/>). Кроме полиморфных локусов в гене *ADRB2*, установлена важная роль полиморфных вариантов других генов в эффективности терапии бета-2-агонистами у пациентов с БА различной этнической принадлежности. Обнаружена ассоциация генотипов и гаплотипов гена аденилилциклазы *ADCY9* с улучшением показателей спирометрии в ответ на использование бета-2-агонистов у больных с БА из Кореи, гена рецептора тиреоидного гормона В *THRB* и гена рецептора кортикотропин-рилизинг гормона 2 *CRHR2* с более выраженным бронходилатационным ответом у пациентов европейского происхождения (Kim et al., 2011; Duan et al., 2013; Drake et al., 2014). В ряде работ показано, что аллельные варианты генов *ARG1* и *ARG2* ассоциированы с риском развития БА, показателями спирометрии и эффективностью терапии бронходилататорами (Li et al., 2006; Salam et al., 2009; Vonk et al., 2010; Duan et al., 2011). Повышенная экспрессия генов аргиназ ведет к снижению биодоступности L-аргинина и уровня оксида азота в организме, увеличению продукции полиаминов и пролина и, как следствие, к увеличению степени воспаления и ремоделирования дыхательных путей (Li et al., 2006; Cloots et al., 2018; Meurs et al., 2019; Said et al., 2019).

Целью нашего исследования был анализ ассоциации полиморфных вариантов генов аргиназ *ARG1* (rs2781667) и *ARG2* (rs17249437, rs3742879, rs7140310) с развитием и течением БА у детей различной этнической принадлежности.

Материалы и методы

В работе использованы образцы ДНК 430 неродственных индивидов, проживающих на территории Республики Башкортостан (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 находились на стационарном лечении или обследовании в детских отделениях Клиники ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский универ-

Таблица 1. Характеристика больных БА и контрольной группы

Показатель	Выборка		
	Русские	Татары	Башкиры
	Больные БА		
Объем выборки	84	108	44
Возраст, лет	10.45 ± 0.39	10.72 ± 0.31	10.34 ± 0.54
Возраст начала БА, лет	3.85 ± 0.34	3.48 ± 0.29	3.73 ± 0.47
Уровень общего IgE, МЕ/мл	432.15 ± 46.15	431.67 ± 38.86	425.30 ± 58.0
ОФВ1, % от нормы	62.51 ± 3.59	73.27 ± 4.64	81.22 ± 8.30
	Контрольная группа		
Объем выборки	75	83	36
Возраст, лет	11.49 ± 0.43	13.54 ± 0.42	14.19 ± 0.58

Примечание. Данные представлены как $M \pm SE$ (среднее значение и стандартная ошибка).

ситет» Минздрава Российской Федерации и аллергологическом отделении ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница» г. Уфы. Основным критерием включения детей в группу наблюдения стал установленный диагноз заболевания в соответствии с критериями GINA (Global Initiative for Asthma) и критериями отечественных программных документов по диагностике, лечению и профилактике БА (Национальная программа..., 2012).

Все больные БА, вошедшие в группу исследования, получали не менее трех месяцев монотерапию ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) или комбинированную терапию (ИГКС–длительно действующий бета-2-агонист) в суточной дозе от 100 до 1000 мкг по флутиказону пропранолу в зависимости от тяжести течения и периода заболевания. Группа больных БА, находящихся на монотерапии ИГКС, включала 187 человек, группа больных на комбинированной терапии (ИГКС–ДДБА) – 49 человек. У 172 пациентов наблюдалось контролируемое течение заболевания на фоне терапии ИГКС и ИГКС–ДДБА, у 50 – частично контролируемое, у 14 пациентов – неконтролируемое течение БА.

Оценку функции внешнего дыхания у больных БА и индивидов контрольной группы выполняли на компьютерном спирометре (Erich Jaeger, Германия) с анализом кривой «поток–объем». Оценивали следующие показатели (в процентах от должных величин, заложенных в компьютерную базу спирометра): жизненную емкость легких (ЖЕЛ), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 с (ОФВ1), максимальные объемные скорости потока кривой в точках, соответствующих 75, 50 и 25 % ФЖЕЛ (МОС75, МОС50, МОС25 соответственно). Градации нормы и снижение параметров спирограммы в процентах от должной величины для детей до 18 лет оценивались по Р.Ф. Клементу и Н.А. Зильберу (Клемент, Зильбер, 1993). У пациентов с клиническими симптомами БА, которым не было возможности провести спирометрию, выполняли множественные измерения пиковой скорости выдоха (ПСВ) при пикфлоуметрии.

Оценку степени контроля БА на фоне проводимой не менее трех месяцев терапии осуществляли на основании клинических признаков за последние 4 недели (частота дневных симптомов и частота ночных пробуждений в

неделю, потребность в препаратах для купирования приступов в неделю, ограничение активности из-за БА) с использованием валидизированного вопросника «Тест по контролю над астмой» (Asthma control test, АСТ). В качестве контроля исследована группа практически здоровых детей без бронхолегочных, аллергических и аутоиммунных заболеваний с неотягощенной наследственностью в отношении аллергических заболеваний, состоящая из 194 человек (119 девочек, 75 мальчиков) соответствующей этнической принадлежности (русские – 75, татары – 83, башкиры – 36). У детей, включенных в группу контроля, был низкий уровень иммуноглобулина Е (IgE) и не было отклонений от нормальных показателей функции внешнего дыхания по данным спирометрии или пикфлоуметрии. Все дети с 15 лет 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).

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1984). Анализ полиморфных вариантов rs2781667 (с.57+665С > Т) гена аргиназы 1 *ARG1* и rs17249437 (с.185-8016Т > С), rs3742879 (с.859+101А > G), rs7140310 (с.363-1623Т > G) гена аргиназы 2 *ARG2* проводили с использованием набора реагентов для амплификации ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS) (ООО «Тест-Ген», Москва) согласно протоколу фирмы-производителя, с помощью системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 (Bio-Rad, США).

Выбор однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОМП) в исследуемых генах был основан на данных литературы, сведений баз данных о частотах редких аллелей полиморфных локусов (более 5 %), их возможном регуляторном влиянии на экспрессию гена, функциональной значимости (Li et al., 2006; Salam et al., 2009; Vonk et al., 2010; Duan et al., 2011).

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 контро-

ля применялся критерий χ^2 для таблиц сопряженности 2×2 с поправкой Йейтса на непрерывность. В случае достоверных отличий в исследуемых выборках проводилась оценка показателя отношения шансов (odds ratio, OR), а также границ его 95 % доверительного интервала (CI 95 %). Статистическая обработка количественных данных выполнена 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 – по критерию Левена. Вклад аллельных вариантов изучаемых генов-кандидатов в вариабельность количественных признаков определяли при помощи критерия Краскела–Уоллиса (в случае трех групп) или Манна–Уитни (в случае

двух групп). Неравновесие по сцеплению между парами полиморфных локусов оценивали с помощью коэффициента D' , предложенного Левонтином, и коэффициента корреляции r^2 Пирсона. Определение частот гаплотипов и тестирование различий в распределении частот гаплотипов в исследуемых выборках проводилось согласно EM-алгоритму, реализованному в программе Haploview 4.2 (<https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>).

Результаты

У больных БА и здоровых индивидов, проживающих в РБ, исследованы частоты аллелей и генотипов четырех полиморфных вариантов генов аргиназ *ARG1* (rs2781667) и *ARG2* (rs17249437, rs3742879, rs7140310) (табл. 2). Распределение частот генотипов по всем полиморфным локусам соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0.05$).

Таблица 2. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs2781667 гена *ARG1* и rs17249437, rs3742879, rs7140310 гена *ARG2* у больных БА и в контрольной группе

Исследуемая группа		N	Генотипы			Аллели	
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
rs2781667			CC	CT	TT	C	T
Больные БА	Русские	84	40 (47.62)	36 (42.86)	8 (9.52)	116 (69.05)	52 (30.95)
	Татары	107	54 (50.47)	44 (41.12)	9 (8.41)	152 (71.03)	62 (28.97)
	Башкиры	44	22 (50.0)	18 (40.91)	4 (9.09)	62 (70.45)	26 (29.55)
Контроль	Русские	75	37 (49.33)	33 (44.0)	5 (6.67)	107 (71.33)	43 (28.67)
	Татары	82	34 (41.46)	32 (39.02)	16 (19.51)	100 (60.98)	64 (39.02)
	Башкиры	35	17 (48.57)	17 (48.57)	1 (2.86)	51 (72.86)	19 (27.14)
rs17249437			TT	TC	CC	T	C
Больные БА	Русские	84	48 (57.14)	29 (34.52)	7 (8.33)	125 (74.4)	43 (25.6)
	Татары	107	43 (40.19)	53 (49.53)	11 (10.28)	139 (64.95)	75 (35.05)
	Башкиры	44	17 (38.64)	21 (47.73)	6 (13.64)	55 (62.5)	33 (37.5)
Контроль	Русские	74	31 (41.89)	36 (48.65)	7 (9.46)	98 (66.22)	50 (33.78)
	Татары	82	33 (40.24)	35 (42.68)	14 (17.07)	101 (61.59)	63 (38.41)
	Башкиры	36	13 (36.11)	18 (50.0)	5 (13.89)	44 (61.11)	28 (38.89)
rs3742879			AA	AG	GG	A	G
Больные БА	Русские	84	37 (44.05)	31 (36.9)	16 (19.05)	105 (62.5)	63 (37.5)
	Татары	106	57 (53.77)	41 (38.68)	8 (7.55)	155 (73.11)	57 (26.89)
	Башкиры	44	23 (52.27)	19 (43.18)	2 (4.55)	65 (73.86)	23 (26.14)
Контроль	Русские	75	36 (48.0)	32 (42.67)	7 (9.33)	104 (69.33)	46 (30.67)
	Татары	82	42 (51.22)	37 (45.12)	3 (3.66)	121 (73.78)	43 (26.22)
	Башкиры	36	17 (47.22)	17 (47.22)	2 (5.56)	51 (70.83)	21 (29.17)
rs7140310			AA	AC	CC	A	C
Больные БА	Русские	82	63 (76.83)	19 (23.17)	–	145 (88.41)	19 (11.59)
	Татары	107	72 (67.29)	34 (31.87)	1 (0.93)	178 (83.18)	36 (16.82)
	Башкиры	44	21 (47.73)	22 (50.0)	1 (2.27)	64 (72.73)	24 (27.27)
Контроль	Русские	75	53 (70.67)	22 (29.33)	–	128 (85.33)	22 (14.67)
	Татары	83	56 (67.47)	22 (26.51)	5 (6.02)	134 (80.72)	32 (19.68)
	Башкиры	36	24 (66.67)	11 (30.56)	1 (2.78)	59 (81.94)	13 (18.06)

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

Проведен анализ ассоциаций изученных полиморфных вариантов с риском развития и клинико-функциональными особенностями БА (степень контроля БА, возраст начала БА, уровень сывороточного IgE, показатели спиррографии).

Ген, кодирующий аргиназу 1 (*ARG1*), локализован на хромосоме 6 в области 6q23.2 и состоит из 8 экзонов (Vonk et al., 2010). Частота аллеля rs2781667*T в контрольной группе русских составила 28.67 %, татар – 39.02 %, башкир – 27.14 %. Установлена ассоциация аллеля rs2781667*C с риском развития БА у индивидов татарской этнической принадлежности ($p = 0.04$; OR = 1.57, CI 95 % 1.02–2.41). Генотип rs2781667*TT и аллель rs2781667*T полиморфного варианта гена *ARG1* являются маркерами пониженного риска развития БА у татар ($p = 0.03$; OR = 0.38, CI 95 % 0.16–0.91 и $p = 0.04$; OR = 0.64, CI 95 % 0.41–0.98 соответственно).

Вклад аллельных вариантов изучаемых генов-кандидатов в вариабельность количественных признаков (уровень IgE, возраст начала заболевания) определяли с помощью критерия Краскела–Уоллиса (в случае трех групп) или Манна–Уитни (в случае двух групп). Анализ вариабельности уровня IgE у пациентов с различными генотипами полиморфного локуса rs2781667 гена *ARG1* в группе русских с БА выявил более высокие показатели IgE у носителей генотипа rs2781667*CC по сравнению с носителями генотипов rs2781667*CT и rs2781667*TT. Выявлено статистически значимое повышение уровня IgE у носителей генотипа rs2781667*CC по сравнению с носителями генотипа rs2781667*CT ($p = 0.003$).

Генотип	IgE, МЕ/мл
rs2781667*CC	520.70 ± 72.47
rs2781667*CT	331.7 ± 66.28
rs2781667*TT	471.5 ± 108.3
Тест Краскела–Уоллиса	$H = 8.49, p = 0.01$
U-тест Манна–Уитни	
rs2781667*CC/rs2781667*CT	$U = 354.0, p = 0.003$
rs2781667*CC/rs2781667*TT	$U = 136.0, p = 0.91$
rs2781667*CT/rs2781667*TT	$U = 93.0, p = 0.18$

Ген *ARG2* расположен в хромосомной области 14q24.1, состоит из 8 экзонов (Vonk et al., 2010). Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs17249437 гена *ARG2* показал, что менее распространенным в контрольных группах русских, татар и башкир является аллель rs17249437*C (33.78, 38.41 и 38.89 % соответственно) (см. табл. 2). При сравнении групп больных со здоровыми индивидами статистически значимых ассоциаций полиморфного варианта rs17249437 гена *ARG2* с риском развития БА не обнаружено ($p > 0.05$). Отличия в распределении частот генотипов rs17249437 выявлены при разделении пациентов с учетом отклонений от нормы параметров спиррографии в сравнении с группой контроля. Частота гомозиготного генотипа rs17249437*TT (67.74 и 67.74 %) у русских со значительными снижениями параметров ОФВ1 и МОС25 была статистически значимо выше, чем в контрольной группе индивидов (41.89 %; $p = 0.02$; OR = 2.91, CI 95 % 1.2–7.05 и $p = 0.02$; OR = 2.91, CI 95 % 1.2–7.05 соответственно). Частота гетерозиготного генотипа rs17249437*TC у пациентов рус-

ской этнической принадлежности со значительно сниженными показателями ОФВ1 и МОС25 была ниже (19.35 и 22.58 %), чем в контрольной группе (48.65 %; $p = 0.005$; OR = 0.25, CI 95 % 0.09–0.69 и $p = 0.01$; OR = 0.31, CI 95 % 0.12–0.8 соответственно).

У русских пациентов с БА с частично контролируемым и неконтролируемым течением заболевания, которым чаще трех раз в неделю требовались бета-2-агонисты для купирования симптомов заболевания, выявлена более высокая частота встречаемости аллеля rs17249437*T (87.93 %) и генотипа rs17249437*TT (82.76 %) по сравнению с пациентами с контролируемым течением заболевания: 67.27 % для аллеля rs17249437*T ($p = 0.004$; OR = 3.54, CI 95 % 1.46–8.59) и 43.64 % для генотипа rs17249437*TT ($p = 0.0006$; OR = 6.20, CI 95 % 2.06–18.64). Аналогичная ассоциация обнаружена и у больных БА татарской этнической принадлежности. В группе пациентов с частично контролируемым и неконтролируемым течением заболевания выявлялись чаще аллель rs17249437*T (77.59 %) и генотип rs17249437*TT (58.62 %), по сравнению с больными БА с контролируемым течением заболевания – 60.26 % для аллеля rs17249437*T ($p = 0.02$; OR = 2.28, CI 95 % 1.14–4.58) и 33.33 % для генотипа rs17249437*TT ($p = 0.02$; OR = 2.83, CI 95 % 1.18–6.80).

Согласно результатам исследования полиморфного варианта rs3742879 гена *ARG2* у больных БА и индивидов контрольной группы из РБ, менее распространенным во всех этнических группах является аллель rs3742879*G, выявленный в контрольной группе русских с частотой 30.67 %, татар – 26.22 %, башкир – 29.17 % (см. табл. 2). Анализ ассоциаций полиморфного варианта rs3742879 гена *ARG2* с развитием БА у индивидов различной этнической принадлежности не выявил статистически значимых различий между группами больных и контроля ($p > 0.05$). При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3742879 в группах пациентов с различными показателями спиррографии установлено, что у русских, больных БА, со значительным снижением ОФВ1 генотип rs3742879*GG встречался значительно чаще (25.81 %), чем в контрольной группе (9.33 %; $p = 0.03$; OR = 3.38, CI 95 % 1.1–10.35).

При исследовании полиморфного варианта rs7140310 гена *ARG2* не найдено статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов между больными БА и контролем различной этнической принадлежности ($p > 0.05$). Наименее распространенным во всех этнических группах является аллель rs7140310*C, обнаруженный в контрольной группе русских с частотой 14.67 %, у татар – 19.28 %, у башкир – 18.06 % (см. табл. 2).

В результате исследования полиморфных вариантов rs17249437, rs3742879, rs7140310 гена *ARG2* в выборках различной этнической принадлежности выявлено значительное неравновесие по сцеплению между полиморфными локусами rs17249437 и rs3742879 ($D' = 0.76$ у русских, $D' = 0.85$ у татар, $D' = 0.9$ у башкир) во всех изученных группах. При проведении гаплотипического анализа данных полиморфных вариантов гена *ARG2* не обнаружено статистически значимых различий частот гаплотипов между больными БА и контрольной группой ($p > 0.05$).

Обсуждение

Недостаточный контроль над воспалением дыхательных путей при БА приводит к прогрессированию заболевания, способствует возрастанию числа тяжелых форм, случаев смертности и инвалидизации больных. В настоящее время разработаны и доступны высокоэффективные лекарственные препараты, раскрыты многие значимые механизмы патогенеза БА, но проблема недостаточного контроля БА остается одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения. Многочисленные работы свидетельствуют о межэтнических различиях генетических маркеров риска развития БА и чувствительности к препаратам у разных индивидов (Martinez et al., 1997; Litonjua et al., 2008; Poon et al., 2008; Vonk et al., 2010; Kim et al., 2011; Батожаргалова и др., 2017; Scaparrotta et al., 2019). Ранее нами было проведено исследование гена *ADRB2*, в результате которого обнаружена ассоциация аллеля rs1042713**A* с умеренным снижением ОФВ1 у пациентов с БА, проживающих на территории РБ (Федорова и др., 2013). В данной работе проанализированы ассоциации полиморфных вариантов генов аргиназ *ARG1* (rs2781667) и *ARG2* (rs17249437, rs3742879, rs7140310) с развитием и течением БА, а также с чувствительностью к терапии у пациентов с БА.

Аргиназа представляет собой фермент, катализирующий гидролиз L-аргинина с образованием орнитина и мочевины (Dimitriadis et al., 2014). Два изофермента аргиназы I и II типа кодируются генами *ARG1* и *ARG2* (Vonk et al., 2010). Аллергическое воспаление вызывает снижение общего количества NO и увеличение продукции проконтрактильного и провоспалительного пероксинитрита (ONOO⁻), в частности iNOS, что приводит к обструкции, воспалению и увеличению гиперреактивности дыхательных путей. Кроме того, при аллергической астме под влиянием Th2-цитокинов (IL-4, IL-13) и TGF-β увеличивается экспрессия аргиназы, что повышает продукцию L-орнитина, полиаминов и L-пролина, участвующих в ремоделировании дыхательных путей, вызывая клеточную пролиферацию, повышенную выработку коллагена и фиброз клеток (см. рисунок) (Meurs et al., 2019).

В результате данного исследования установлено, что аллель rs2781667**C* гена *ARG1* ассоциирован с риском развития БА у татар. При сравнительном анализе количественных признаков выявлены более высокие показатели IgE у русских с генотипом rs2781667**CC* по сравнению с носителями генотипа rs2781667**CT*. Впервые ассоциация аллельных вариантов гена *ARG1* с эффективностью терапии БА установлена в работе (Litonjua et al., 2008) у детей с БА европейского происхождения, находящихся на терапии бета-2-агонистами. Обнаружена значимая ассоциация аллеля rs2781659**G* гена *ARG1* с более выраженным бронходилатационным ответом, а ген *ARG1* предложен в качестве возможного маркера риска, определяющего эффективность терапии БА (Litonjua et al., 2008). В работе (Vonk et al., 2010) наблюдалось значительное снижение бронходилатационного ответа у пациентов с БА из Нидерландов с генотипом rs2781667**TT* гена *ARG1* в ответ на терапию бета-2-агонистами. В то же время у больных тяжелой БА с генотипом rs2781667**CC* гена *ARG1* было выявлено снижение показателей ОФВ1 на фоне лечения ИГКС (Vonk et al., 2010). Установлена ассоциация аллеля



Метаболизм аргинина и его влияние на формирование аллерген-индуцированной обструкции, воспаления, гиперреактивности и ремоделирования дыхательных путей, а также повышенной чувствительности к аллергенам (Meurs et al., 2019).

rs2781666**T* и гаплотипа *CT* (rs60389358, 2781666) гена *ARG1* с риском развития БА и показан значительно более высокий уровень сывороточной аргиназы у пациентов с БА из Индии (Donthi et al., 2018). Напротив, в некоторых исследованиях не обнаружено значимой ассоциации полиморфных вариантов гена *ARG1* с эффективностью лечения БА (Almomani et al., 2019; Scaparrotta et al., 2019). В совокупности полученные результаты и литературные данные подтверждают, что аллельные варианты гена *ARG1* могут вносить вклад в риск развития БА и эффективность терапии заболевания.

В настоящем исследовании обнаружена ассоциация генотипов rs17249437**TT* и rs3742879**GG* гена *ARG2* со сниженными показателями спирографии (ОФВ1, МС25), аллеля rs17249437**T* и генотипа rs17249437**TT* гена *ARG2* – с частично контролируемым и неконтролируемым течением заболевания у пациентов русской и татарской этнической принадлежности. Полученные нами результаты противоречат данным работы Vonk с коллегами, в которой выявлена ассоциация аллеля rs17249437**T*, генотипа rs7140310**TT* и аллеля rs3742879**G* с более высокими значениями ОФВ1, а генотипа rs3742879**AA* – с увеличением гиперреактивности бронхов у взрослых пациентов с БА, проживающих в Нидерландах (Vonk et al., 2010). Кроме того, наши данные частично не согласуются с данными исследования Б.Ц. Батожаргаловой с соавторами (2017), по итогам которого показана ассоциация комбинации генотипов NOS2A*(*CC*TTTT) nS/L и rs3742879**AA* гена *ARG2* с повышенным риском развития БА у девочек из России. В то же время М. Salam с коллегами при изучении полиморфных вариантов гена *ARG2* обнаружили ассоциацию аллеля rs3742879**G* в составе гаплотипа TAGTCATGGC (rs12885261, rs7144243, rs3759757, rs4902501, rs7156352, rs4902503, rs7140310, rs742869, rs3742879, rs10483801) со значительно более высоким риском возникновения заболевания у больных БА европейского происхождения (Salam et al., 2009). Это может свидетельствовать о значимой роли аллельных ва-

риантов гена *ARG2* в развитии БА именно в структуре гаплотипа. Исследуя полиморфные варианты гена *ARG2* в выборках различной этнической принадлежности, мы выявили значительное неравновесие по сцеплению между полиморфными локусами rs17249437 и rs3742879 во всех изученных группах. При проведении гаплотипического анализа данных полиморфных вариантов гена *ARG2* значимых ассоциаций не обнаружено, что, возможно, связано с малочисленностью сравниваемых групп.

Заключение

Таким образом, выполнено исследование полиморфных вариантов генов аргиназ *ARG1* и *ARG2*, участвующих в метаболизме бета-2-агонистов, у больных БА и в соответствующей контрольной группе из Республики Башкортостан. Установлено, что аллель rs2781667*С гена *ARG1* является маркером повышенного риска развития БА у татар. Выявлены более высокие показатели общего IgE у пациентов русской этнической принадлежности с генотипом rs2781667*СС. Обнаружено, что генотипы rs17249437*ТТ и rs3742879*GG гена *ARG2* ассоциированы со снижением показателей функции внешнего дыхания (ОФВ1, МОС25) у больных БА русской этнической принадлежности. У пациентов с БА русской и татарской этнической принадлежности установлена ассоциация аллеля rs17249437*Т и генотипа rs17249437*ТТ с частично контролируемым и неконтролируемым течением заболевания. Полученные результаты вносят определенный вклад в понимание патогенеза и молекулярных основ чувствительности к терапии БА.

Список литературы / References

Батожагаралова Б.Ц., Мизерницкий Ю.Л., Дьякова С.Э., Петрова Н.В., Зинченко Р.А. Роль полиморфных вариантов генов NO-синтазы и аргиназы при бронхиальной астме у детей. *Медицинская генетика*. 2017;16(2):40-48.
[Batozhargalova B.T., Mizernitskiy Y.L., Diakova S.E., Petrova N.V., Zinchenko R.A. Role of polymorphic variants of NO synthase and arginase genes in child bronchial asthma. *Meditsinskaya Genetika = Medical Genetics*. 2017;16(2):40-48. (in Russian)]
Клемент Р.Ф., Зильбер Н.А. Функционально-диагностические исследования в пульмонологии: методические рекомендации. СПб., 1993.
[Klement R.F., Zilber N.A. Functional Diagnostic Tests in Pulmonology: Guidelines. St. Petersburg, 1993. (in Russian)]
Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 4-е изд. М.: Оригинал-макет, 2012.
[National Program "Bronchial Asthma in Children. Treatment Strategy and Prevention". 4th edn. Moscow: Original-Maket Publ., 2012. (in Russian)]
Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд. М.: Оригинал-макет, 2017.
[National Program "Bronchial Asthma in Children. Treatment Strategy and Prevention". 5th edn. Moscow: Original-Maket Publ., 2017. (in Russian)]
Федорова Ю.Ю., Карунас А.С., Мурзина Р.Р., Мухтарова Л.А., Рамазанова Н.Н., Гималова Г.Ф., Гатиятуллин Р.Ф., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Исследование ассоциации полиморфных вариантов гена β 2-адренергического рецептора с бронхиальной астмой у русских. *Практ. медицина*. 2013;5(74):116-120.
[Fedorova Yu.Yu., Karunas A.S., Murzina R.R., Mukhtarova L.A., Ramazanova N.N., Gimalova G.F., Gatiyatullin R.F., Zagidullin Sh.Z., Etkina E.I., Khusnutdinova E.K. Association study of the

β 2-adrenergic receptor gene polymorphisms with bronchial asthma in Russians. *Prakticheskaya Meditsina = Practical Medicine*. 2013; 5(74):116-120. (in Russian)]
Almomani B.A., Al-Eitan L.N., Al-Sawalha N.A., Samrah S.M., Al-Quasbi M.N. Association of genetic variants with level of asthma control in the Arab population. *J. Asthma Allergy*. 2019;12:35-42. DOI 10.2147/JAA.S186252.
Bateman E.D., Kormmann O., Schmidt P., Pivovarova A., Engel M., Fabbri L.M. Tiotropium is noninferior to salmeterol in maintaining improved lung function in B16-Arg/Arg patients with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011;128(2):315-322. DOI 10.1016/j.jaci.2011.06.004.
Cloots R.H.E., Poynter M.E., Terwindt E., Lamers W.H., Köhler S.E. Hypoargininemia exacerbates airway hyperresponsiveness in a mouse model of asthma. *Respir. Res.* 2018;19:98. DOI 10.1186/s12931-018-0809-9.
Dimitriades V., Rodriguez P.C., Zabaleta J., Ochoa A.C. Arginase I levels are decreased in the plasma of pediatric patients with atopic dermatitis. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2014;113(3):271-275. DOI 10.1016/j.anai.2014.06.010.
Donthi S., Neela V.S.K., Gaddam S., Mohammed H.H., Ansari S.S., Valluri V.L., Sivasai K.S.R. Association of increased risk of asthma with elevated arginase & interleukin-13 levels in serum & rs2781666 G/T genotype of arginase I. *Indian J. Med. Res.* 2018;148(2):159-168. DOI 10.4103/ijmr.IJMR_379_16.
Drake K.A., Torgerson D.G., Gignoux C.R., Galanter J.M., Roth L.A., Huntsman S., Eng C., Oh S.S., Yee S.W., Lin L., Bustamante C.D., Moreno-Estrada A., Sandoval K., Davis A., Borrell L.N., Farber H.J., Kumar R., Avila P.C., Brigino-Buenaventura E., Chappela R., Ford J.G., Lenoir M.A., Lurmann F., Meade K., Serebrisky D., Thyne S., Rodríguez-Cintrón W., Sen S., Rodríguez-Santana J.R., Hernandez R.D., Giacomini K.M., Burchard E.G. A genome-wide association study of bronchodilator response in Latinos implicates rare variants. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014;133(2):370-378. DOI 10.1016/j.jaci.2013.06.043.
Duan Q.L., Du R., Lasky-Su J., Klanderman B.J., Partch A.B., Peters S.P., Irvin C.G., Hanrahan J.P., Lima J.J., Blake K.V., Liggett S.B., Litonjua A.A., Tantisira K.G. A polymorphism in the thyroid hormone receptor gene is associated with bronchodilator response in asthmatics. *Pharmacogenomics J.* 2013;13(2):130-136. DOI 10.1038/tpj.2011.56.
Duan Q.L., Gaume B.R., Hawkins G.A., Himes B.E., Bleecker E.R., Klanderman B., Irvin C.G., Peters S.P., Meyers D.A., Hanrahan J.P., Lima J.J., Litonjua A.A., Tantisira K.G., Liggett S.B. Regulatory haplotypes in *ARG1* are associated with altered bronchodilator response. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011;183(4):449-454. DOI 10.1164/rccm.201005-0758OC.
Farzan N., Vijverberg S.J., Arets H.G., Raaijmakers J.A., Maitland-van der Zee A.H. Pharmacogenomics of inhaled corticosteroids and leukotriene modifiers: a systematic review. *Clin. Exp. Allergy*. 2017; 47(2):271-293. DOI 10.1111/cea.12844.
Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Updated 2018. Vancouver, USA GINA, 2018.
Kim S.H., Ye Y.M., Lee H.Y., Sin H.J., Park H.S. Combined pharmacogenetic effect of *ADCY9* and *ADRB2* gene polymorphisms on the bronchodilator response to inhaled combination therapy. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2011;36(3):399-405. DOI 10.1111/j.1365-2710.2010.01196.x.
Li H., Romieu I., Sienra-Monge J., Ramirez-Aguilar M., Estela del Rio-Navarro B., Kistner E.O., Gjessing H.K., Lara-Sanchez I. del C., Chiu G.Y., London S.J. Genetic polymorphisms in arginase I and II and childhood asthma and atopy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006; 117(1):119-126. DOI 10.1016/j.jaci.2005.09.026.
Litonjua A.A., Lasky-Su J., Schneiter K., Tantisira K.G., Lazarus R. *ARG1* is a novel bronchodilator response gene: screening and replication in four asthma cohorts. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 178(7):688-694. DOI 10.1164/rccm.200709-1363OC.
Martinez F.D., Graves P.E., Baldini M., Solomon S., Erickson R. Association between genetic polymorphisms of the beta-2 adrenoceptor

- and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. *J. Clin. Invest.* 1997;100(12):3184-3188. DOI 10.1172/JCI119874.
- Mathew C.G.P. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA. In: Walker J.M. (Ed.). *Methods in Molecular Biology*. Vol. 2. *Nucleic Acids*. Humana Press, Clifton, New Jersey, 1984;31-34.
- Meurs H., Zaagsma J., Maarsingh H., Duin M. Recent patents in allergy/immunology: use of arginase inhibitors in the treatment of asthma and allergic rhinitis. *Allergy*. 2019;74(6):1206-1208. DOI 10.1111/all.13770.
- Poon A.H., Tantisira K.G., Litonjua A.A., Lazarus R., Xu J., Lasky-Su J., Lima J.J., Irvin C.G., Hanrahan J.P., Lange C., Weiss S.T. Association of corticotropin-releasing hormone receptor-2 genetic variants with acute bronchodilator response in asthma. *Pharmacogenet. Genomics*. 2008;18(5):373-382. DOI 10.1097/FPC.0b013e3282fa760a.
- Said A.M.A., Naqshbandi A.A.A., Amin Y.K., Ali R.J. Association of the arginase I with bronchial asthma. *J. Univ. Babylon Pure Appl. Sci.* 2019;27(2):238-243. DOI 10.29196/jubpas.v27i2.2092.
- Salam M.T., Islam T., Gauderman W.J., Gilliland F.D. Roles of arginase variants, atopy, and ozone in childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009;123:596-602. DOI 10.1016/j.jaci.2008.12.020.
- Scaparrotta A., Franzago M., Loredana Marcovecchio M., Pillo S.D., Chiarelli F., Mohn A., Stuppia L. Role of *THRB*, *ARG1*, and *ADRB2* genetic variants on bronchodilators response in asthmatic children. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2019;32:1-10. DOI 10.1089/jamp.2018.1493.
- Vonk J.M., Postma D.S., Maarsingh H., Bruinenberg M., Koppelman G.H., Meurs H. Arginase 1 and arginase 2 variations associate with asthma, asthma severity and β_2 agonist and steroid response. *Pharmacogenet. Genomics*. 2010;20(3):179-186. DOI 10.1097/FPC.0b013e328336c7fd.

ORCID ID

O.N. Savelieva orcid.org/0000-0002-9690-1481
A.S. Karunas orcid.org/0000-0002-2570-0789
Yu.Yu. Fedorova orcid.org/0000-0002-9344-828X
E.I. Etkina orcid.org/0000-0003-1371-7927
E.K. Khusnutdinova orcid.org/0000-0003-2987-3334

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проектов № 17-04-02195 и 19-31-590055, государственного задания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116020350032-1). Использованы образцы ДНК из «Коллекции биологических материалов человека» ИБГ УФИЦ РАН, поддержанной Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 06.11.2019. После доработки 18.03.2020. Принята к публикации 29.04.2020.