

Исследование роли полиморфных вариантов генов, ответственных за метаболизм глюкокортикостероидов, в развитии бронхиальной астмы*

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

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, 450054, г.Уфа, просп. Октября, 71, e-mail: molgen@anrb.ru

² — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет», 450076, г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32

³ — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450000, г.Уфа, ул. Ленина,3

Бронхиальная астма (БА) является одним из наиболее распространенных тяжелых и инвалидизирующих многофакторных заболеваний. Проведен анализ полиморфных вариантов генов глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* (*rs41423247*), рецептора кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* (*rs242939*, *rs1876828*, *rs242941*) и транскрипционного фактора *TBX21* (*rs2240017*) у больных бронхиальной астмой, находящихся на терапии глюкокортикостероидами, и здоровых индивидов, проживающих на территории Республики Башкортостан (РБ). Установлена ассоциация полиморфного варианта *rs41423247* гена *NR3C1* со значительным снижением показателей функции внешнего дыхания у больных БА. Обнаружено, что у башкир маркерами повышенного риска развития БА являются генотип *rs242941**C/A и гаплотип AA (*rs242939*, *rs242941*) гена *CRHR1*; у татар — генотип *rs41423247**C/G гена *NR3C1*.

Ключевые слова: бронхиальная астма, полиморфный вариант, гены, ответственные за метаболизм глюкокортикостероидов, ассоциация

Введение

Бронхиальная астма (БА) является одним из наиболее распространенных тяжелых и инвалидизирующих многофакторных заболеваний, развивающихся при тесном взаимодействии генетических и средовых факторов риска. Лекарственные препараты для лечения БА делят на препараты поддерживающей терапии, основными из которых являются ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС) и антилейкотриеновые средства, и препараты для облегчения симптомов заболевания (преимущественно быстродействующие β_2 -агонисты) [1].

Глюкокортикостероиды (ГКС) являются наиболее эффективными и используемыми препаратами для лечения хронического аллергического воспаления дыхательных путей у пациентов с БА. Противовоспалительный эффект этих препаратов реализуется путем взаимодействия их с глюкокортикоидными рецепторами (ГР), что приводит к изменению экспрессии генов, вовлеченных в воспаление [2]. Несмотря на достигнутые успехи клинической фармакологии, у 10–20% пациентов, особенно с тяжелой формой БА, не удается достичь полного контроля над заболеванием, даже несмотря на высокие дозы гормонов [1]. Именно ответ на терапию ГКС лежит в основе всех существующих определений как неконт-

ролируемой БА, так и классификаций терапевтической резистентности. При исследовании клинического ответа пациентов с БА на лечение ГКС установлено, что до 60–80% различий в чувствительности к препаратам обусловлено генетическими факторами, поэтому вклад генетической составляющей в эффективность терапии ГКС активно исследуется во всем мире [1, 3, 4].

Фармакогенетические исследования БА, проводимые в последнее 10-летие, позволили идентифицировать около 30 генов, которые ассоциированы с измененным ответом на основные классы противоастматических препаратов (β_2 -агонисты, антагонисты лейкотриенов и ИГКС) [3, 4]. В ряде исследований установлено, что изменение чувствительности тканей к ГКС ассоциировано с полиморфными вариантами в гене глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* [5–12]. Выявлено, что ген рецептора кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* вовлечен в регуляцию эндогенного уровня кортикостероидов и может оказывать влияние на ответ на ГКС, назначаемые экзогенно [13–18]. Обнаружено, что ген *TBX21*, кодирующий транскрипционный регулятор T-bet, также вносит вклад в эффективность терапии ГКС [19–21]. В результате полногеномных анализов ассоциаций (Genome-wide Association Studies, GWAS)

* Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ №13-04-01397) на оборудовании ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

идентифицированы новые гены *GLCC11*, *SPATS2L*, *MLLT3*, *T-gene* и межгенный полиморфный вариант *rs11252394* в хромосомной области 10p15, ассоциированные с изменением функции легких в ответ на лечение БА [22–26]. Результаты проведенных исследований противоречивы, а в аспекте этнической принадлежности пациентов, степени тяжести БА, лечения ГКС, особенно при длительном наблюдении, единичны как в зарубежной, так и в отечественной литературе.

Таким образом, представляется актуальным изучение генетических маркеров эффективности проводимой противоастматической терапии у больных БА.

Целью нашего исследования была оценка значимости полиморфных вариантов генов глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* (*rs41423247*), рецептора кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* (*rs242939*, *rs1876828*, *rs242941*) и транскрипционного фактора *TBX21* (*rs2240017*) в прогнозировании развития и течения БА в группе пациентов, находящихся на терапии ГКС.

Материалы и методы

В работе использованы образцы ДНК 637 неродственных индивидов, проживающих на территории РБ, в возрасте 2–17 лет. Группу пациентов составили 350 больных БА (106 девочек, 244 мальчика) различной этнической принадлежности (русские — 84, татары — 108, башкиры — 44, метисы — 114 чел.). Все обследованные являлись пациентами детского отделения Клиники Башкирского государственного медицинского университета и аллергологического отделения Республиканской детской клинической больницы г.Уфы. Критериями включения детей в основную группу наблюдения являлись установленный ранее диагноз *бронхиальная астма*, терапия ИГКС не менее 3 месяцев. Диагноз БА устанавливался в соответствии с критериями GINA (2012) и критериями отечественных программных документов по диагностике, лечению и профилактике БА [27]. Оценка функции внешнего дыхания проводилась на компьютерном спирографе («Erich Jaeger», Германия) с анализом кривой «поток-объем». Оценивались следующие показатели (в процентах от должных величин, заложенных в компьютерную базу спирометра): жизненная емкость легких (ЖЕЛ), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 с (ОФВ1), максимальные объемные скорости потока кривой в точках, соответствующих объему легких 75%, 50%, 25% ФЖЕЛ (МОС75, МОС50, МОС25 соответственно). Градации нормы и снижение параметров спирограммы в процентах от должноствующей величины для детей до 18 лет оценивались по Клементу Р.Ф. и Зильберу Н.А. [28]. В качестве контроля исследована группа здоровых лиц без бронхолегочных, аллергических и аутоиммунных заболеваний, с неотягощенной наследственностью в отношении аллергических заболеваний с очень низким (0–60 МЕ/мл) или низким уровнем

нем IgE (60–150 МЕ/мл), состоящая из 287 чел. (183 девочки, 104 мальчика) соответствующей этнической принадлежности (русские — 75, татары — 83, башкиры — 36, метисы — 93 чел.). Все дети 15 лет и старше, участвующие в исследовании, и родители детей младше 15 лет дали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук (г.Уфа, Пр.Октября, д.71, протокол № 7 от 15.02.2012).

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [29]. Выбор генов для исследования осуществляли в соответствии со следующими критериями: вклад генов-кандидатов в метаболизм ГКС и патогенез заболевания, показанный в работах разных авторов. Для каждого гена были выбраны функционально значимые полиморфные варианты, расположенные в кодирующей или регуляторной областях анализируемых генов, которые имеют высокую частоту в популяции ($MAF \geq 5\%$) и доказанное влияние на функциональную активность конечного продукта. Анализ полиморфных вариантов гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* (*rs41423247*) и гена рецептора кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* (*rs242939*, *rs1876828*) проводили методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК на амплификаторе «Bio-Rad T100 Thermal Cycler». Перечень исследованных локусов и последовательности специфичных олигонуклеотидных праймеров представлены в табл. 1. Праймеры для генотипирования полиморфных локусов *rs1876828*, *rs242939* гена *CRHR1* были подобраны самостоятельно с помощью программы Primer3 v.0.4.0 [30]. Для амплификации использовали реакцию смеси объемом 25 мкл, которая содержала 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 мМ трис-HCl (pH 8,8), 16,6 мМ $(NH_4)_2SO_4$, 2,5 мМ $MgCl_2$, 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* (производства фирмы «Силекс», Москва) и 5–10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Для определения нуклеотидных замен методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ) проводили гидролиз амплифицированных фрагментов соответствующей рестриктазой (табл. 1). Результаты ПДРФ-анализа оценивали путем проведения вертикального электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете. Анализ полиморфных вариантов *rs2240017* гена *TBX21*, *rs242941* гена *CRHR1* проводился с использованием набора реагентов для амплификации ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS) (ООО «ТестГен», Москва) согласно

протоколу фирмы-производителя с помощью системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 (Bio-Rad) (США) (табл. 1).

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 контроля применялся критерий χ^2 для таблиц сопряженности 2 x 2 с поправкой Йейтса на непрерывность. В случае наличия достоверных отличий в исследуемых выборках проводилась оценка показателя отношения шансов (odds ratio, OR), а также границ его 95% доверительного интервала (CI95%). Неравновесие по сцеплению (linkage disequilibrium) между парами полиморфных локусов оценивалось с помощью коэффициента D' , предложенного Левонтином. Определение частот гаплотипов и тестирование различий в распределении частот гаплотипов в исследуемых выборках проводилось согласно EM-алгоритму, реализованному в программе Haploview 4.2 [31].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием параметрической и непараметрической статистики в зависимости от шкал и характера распределения переменных с помощью программы GraphPad Prism 6 (<http://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>). Вид распределения количественных данных оценивался по критерию Шапиро—Уилка. Данные были представлены для нормально распределенных признаков как среднее арифметическое (M) и среднее квадратичное отклонение (s), в других случаях как медиана (Me) и интерквартильный размах (Q25—Q75). Равенство генеральных дисперсий оценивали с помощью критерия Левена. После подтверждения нормальности распределения данных и равенства генеральных дисперсий в сравниваемых выборках применяли однофактор-

ный дисперсионный анализ — для сравнения трех выборок (лиц с различными генотипами). В случаях отличного от нормального распределения или при невыполнении условий равенства дисперсий в аналогичных сравнениях применяли непараметрические тесты (H-критерий Краскела—Уоллиса).

Анализ межгенных взаимодействий проводился с помощью программы GMDR v0.9 (Generalized Multifactor-Dimensionality Reduction) [32].

Результаты

У больных БА и здоровых индивидов, проживающих в РБ, исследованы частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* (*rs41423247*), рецептора кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* (*rs242939*, *rs1876828*, *rs242941*) и транскрипционного фактора *TBX21* (*rs2240017*). Распределение частот генотипов указанных полиморфных вариантов соответствовало распределению Харди—Вайнберга ($p > 0,05$). Учитывая неоднородность населения РБ в этническом отношении, в исследуемые выборки включены индивиды наиболее многочисленных этнических групп Башкортостана: русских, татар и башкир. В работе проведено сравнение распределения частот аллелей и генотипов полиморфных ДНК-локусов, как между контрольными группами различной этнической принадлежности, так и между выборками больных БА и соответствующего по происхождению контроля. Кроме этого, проведен анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов *NR3C1* (*rs41423247*), *CRHR1* (*rs242939*, *rs1876828*, *rs242941*) и *TBX21* (*rs2240017*) с возрастом начала заболевания, с показателями спирографии, с уровнем IgE и суточной дозой ИГКС у больных БА с различными генотипами по исследованным ДНК-локусам.

Таблица 1

Характеристика локусов, исследованных методами ПЦР-ПДРФ, ПЦР в реальном времени, и условий их анализа

Ген	Полиморфный вариант	Последовательность праймеров (5' → 3')	Метод детекции	Ссылка
<i>NR3C1</i>	<i>rs41423247</i> (c.1184+646C>G)	AAATTGAAGCTTAACAATTTTGGC GCAGTGAACAGTGTACCAGACC	ПЦР/ПДРФ (<i>BclI</i>)	Fleury I. et al., 2003
<i>CRHR1</i>	<i>rs242939</i> (c.241+1631A>G)	AGTGATCCTCGTGTCTGGG AAGTAACCCCTTGCAACGGG	ПЦР/ПДРФ (<i>HinfI</i>)	
<i>CRHR1</i>	<i>rs1876828</i> (c.1107+111C>T)	TCCTGGTTTTACAGGCTC GCTGCCTCTCTCCCTCCAG	ПЦР/ПДРФ (<i>AluI</i>)	
<i>CRHR1</i>	<i>rs242941</i> (c.122-1310A>C)	FJ, AGGCCTGAAGAGGCTG RJ, CCTAGAATTGGCACAAGAGTG FAM-cccAcAcGcgctg -BHQ-1 VIC- cccAcCcGcgctg -BHQ-2	ПЦР в реальном времени	
<i>TBX21</i>	<i>rs2240017</i> (c.99C>G, p.His33Gln)	FJ,GGAGACATGCTGACGG RJ,GTAGGGAGACCCAGG FAM-cgcaGcaCcgCtac -BHQ-1 VIC- cgcaGcaGcgCtac -BHQ-2	ПЦР в реальном времени	

Частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного варианта *rs41423247* (*c.1184+646C>G*) гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* у больных БА и здоровых индивидов представлены в табл. 2. Не обнаружено статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов данного локуса между здоровыми индивидами русской, татарской и башкирской этнической принадлежности. Частота наиболее распространенного аллеля *rs41423247*С* гена *NR3C1* в контрольной группе русских составила 60,81%, в выборке татар — 63,86%, в группе башкир — 59,72% и была сопоставима с данными, полученными при исследовании выборок из г.Санкт-Петербурга (60,30%), Польши (61,80%), Нидерландов (64,30%) [2, 8, 11].

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта *rs41423247* гена *NR3C1* не выявил статистически значимых различий между объединенными выборками больных БА и контроля ($p > 0,05$). При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов данного локуса в группах пациентов с различными показателями спирографии установлено, что у больных БА со значительным снижением ЖЕЛ генотип *rs41423247*С/С* встречался почти в 1,5 раза чаще (в 55,07% случаев), чем в контрольной группе (40,49%) ($p = 0,03$; OR = 1,80; 95%CI 1,06—3,06). Частота этого генотипа у больных со значительным снижением ОФВ1 также была более высокой (52,69%), по сравнению с выборкой контроля ($p = 0,04$; OR = 1,64; 95%CI 1,02—2,62). Генотип *rs41423247*С/С* обнаружен с большей частотой (52,58% и 62,50% соответственно) и

у больных со значительным снижением параметров МОС25 и МОС50, чем в группе контроля ($p = 0,04$; OR = 1,63; 95%CI 1,02—2,59 и $p = 0,02$; OR = 2,45; 95%CI 1,15—2,21 соответственно).

Выявленная закономерность подтверждена и при сравнении количественных показателей функции внешнего дыхания у больных БА с различными генотипами по локусу *rs41423247* (табл. 3). В группах пациентов с генотипами *rs41423247*С/С* и *rs41423247*С/С* были отмечены более низкие значения ЖЕЛ, МОС25 и МОС50 по сравнению с носителями генотипа *rs41423247*С/С* ($p < 0,04$). Таким образом, у больных БА, носителей аллеля *rs41423247*С*, отмечено снижение скоростных показателей (МОС25, МОС50) и объема легких (ЖЕЛ), что требует использования высоких доз ИГКС.

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs41423247* между больными БА и здоровыми индивидами согласно их этнической принадлежности выявил статистически значимые различия только у татар: у больных БА частота гетерозиготного генотипа *rs41423247*С/С* была выше (51,85%), чем в контрольной группе (36,14%; $p = 0,03$; OR = 1,90; 95%CI 1,06—3,42). Различия в распределении частот генотипов по локусу *rs41423247* сохранялись и при разделении пациентов с учетом отклонений от нормы параметров спирограммы в сравнении с группой контроля. Частота гетерозиготного генотипа *rs41423247*С/С* (65,52%) у больных татарской этнической принадлежности со значительным снижением МОС25 была выше, чем в контрольной группе (36,14%; $p = 0,006$; OR = 3,36; CI95% 1,38—8,15).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *rs41423247C>G* гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* у больных БА и в контрольной группе

		Генотипы						Аллели				N
		CC		CG		GG		C		G		
		n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	
Боль- ные БА	Русские	37 (44,05)	0,91	35 (41,67)	0,4	12 (14,29)	0,23	109 (64,88)	0,45	59 (35,12)	0,45	84
	Татары	39 (36,11)	0,18	56 (51,85)	0,03	13 (12,04)	0,24	134 (62,04)	0,72	82 (37,96)	0,72	108
	Башкиры	20 (46,51)	0,35	20 (46,51)	0,95	3 (6,98)	0,32	60 (69,77)	0,19	26 (30,23)	0,19	43
	В целом	145 (41,55)	0,66	157 (44,99)	0,26	47 (13,47)	0,33	447 (64,04)	0,86	251 (35,96)	0,86	349
Конт- роль	Русские	32 (43,24)	—	26 (35,14)	—	16 (21,62)	—	90 (60,81)	—	58 (39,19)	—	74
	Татары	38 (45,78)	—	30 (36,14)	—	15 (18,07)	—	106 (63,86)	—	60 (36,14)	—	83
	Башкиры	13 (36,11)	—	17 (47,22)	—	6 (16,67)	—	43 (59,72)	—	29 (40,28)	—	36
	В целом	123 (43,31)	—	115 (40,49)	—	46 (16,20)	—	361 (63,56)	—	207 (36,44)	—	284
Примечание. В табл. 3, 6, 7: n — численности групп; N — объем выборки; p — величина p-значения												

При оценке основных параметров спирограммы у больных БА татарской этнической принадлежности с генотипом *rs41423247*G/G* были отмечены более высокие показатели ЖЕЛ ($p = 0,009$), ОФВ1 ($p = 0,03$), МОС50 ($p = 0,01$) и МОС75 ($p = 0,02$), по сравнению с носителями генотипов *rs41423247*C/G* и *rs41423247*C/C* (табл. 4). Полученные результаты подтверждают, что аллель *rs41423247*C* у татар ассоциирован с более низкими величинами основных показателей спирометрии, что свидетельствует о сниженной эффективности терапии у данной группы пациентов.

Результаты проведенного анализа распределения частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов *rs242939* (*c.241+1631A>G*), *rs1876828* (*c.1107+111C>T*) и *rs242941* (*c.122-1310A>C*) гена рецептора кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* в выборках больных БА и контроля представлены в табл. 5. Обнаружено, что наиболее распространенный аллель *rs242939*A* в контрольной группе русских встречался с частотой 90,54%, у татар — 91,57%, у башкир — 95,83%, что сопоставимо с частотой этого аллеля в европейских популяциях (92,90%). В азиатских популяциях частота аллеля *rs242939*A* достигает 100% (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). При сравнении частот аллелей и генотипов полиморфного варианта *rs242939* как в объединенных выборках больных БА и контроля, так и в разделенных выборках на подгруппы в зависимости от этнической принадлежности, не выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта *rs1876828* гена *CRHR1* выявил, что более распространенным в контрольных группах русских, татар и башкир является аллель *rs1876828*C* (91,78%, 90,36% и 97,22% соответственно) (табл. 5). По данным литературы, частота данного аллеля в европейских и азиатских популяциях является также высокой (78,00% и 100,00% соответственно) [13, 33]

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). При сравнении групп больных со здоровыми донорами в объединенных выборках и в отдельных этнических группах статистически значимых ассоциаций полиморфного варианта *rs1876828* гена *CRHR1* с риском развития БА не установлено ($p > 0,05$).

Проведен сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфного варианта *rs1876828* с данными спирометрии в объединенных группах больных БА и контроля. У детей со значительным снижением МОС50 генотип *rs1876828*C/T* и аллель *rs1876828*T* встречались чаще (в 31,25% и 18,75% случаев), чем в контрольной группе (14,79%; $p = 0,02$; OR = 2,62; 95%CI 1,16—5,92 и 8,80%; $p = 0,01$; OR = 2,39; 95%CI 1,20—4,77 соответственно). Генотип *rs1876828*C/C* и аллель *rs1876828*C* обнаружены с меньшей частотой (65,62% и 81,25%) у больных по сравнению с группой контроля (83,80%; $p = 0,01$; OR = 0,37; 95%CI 0,17—0,82 и 91,20%; $p = 0,01$; OR = 0,42; 95%CI 0,21—0,84 соответственно).

При исследовании полиморфного варианта *rs242941* гена *CRHR1* установлены статистически значимые различия частот аллелей и генотипов данного локуса между контрольными группами русских, татар и башкир (табл. 5). Частота аллеля *rs242941*C* в контрольной выборке башкир была выше (84,72%), чем в контрольных группах татар (76,83%; $p = 0,17$) и русских (64,29%; $p = 0,002$). Кроме того, в выборке башкир значительно чаще, чем у русских, выявлялся гомозиготный генотип *rs242941*C/C* (75,00% vs 41,43%; $p = 0,001$) и значительно реже генотип *rs242941*C/A* (19,44% vs 45,71%; $p = 0,008$). У татар частота генотипа *rs242941*C/C* (60,98%) и аллеля *rs242941*C* (76,83%) также была выше, чем у русских ($p = 0,01$ и $p = 0,02$ соответственно). Частота данного аллеля в европейских и азиатских популяциях составила 70,80% и 87,50% соответственно (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>).

Таблица 3
Анализ ассоциаций полиморфного варианта *rs41423247C>G* гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* с показателями функции внешнего дыхания у больных БА

	Генотип	n	Me (Q25; Q75), %	H (p)
ЖЕЛ	CC	108	72,50 (52,50; 89,75)	6,33 (0,04)
	CG	117	68,0 (48,0; 84,50)	
	GG	26	78,50 (64,25; 97,0)	
МОС25	CC	107	63,0 (24,0; 92,0)	6,63 (0,04)
	CG	117	44,0 (19,50; 89,50)	
	GG	26	85,50 (31,50; 107,0)	
МОС50	CC	107	62,0 (41,0; 91,0)	7,37 (0,03)
	CG	117	55,0 (32,50; 84,0)	
	GG	26	90,0 (44,75; 113,5)	

Примечание. В табл. 4, 5: H (p) — уровень статистической значимости; Me — медиана; Q25-Q75 — интерквартильный размах

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей полиморфного локуса *rs242941* у больных БА и здоровых индивидов выявил статистически значимые различия только у башкир. В группе пациентов с БА установлена более высокая частота генотипа *rs242941**C/A (44,19%) по сравнению с контрольной выборкой (19,44%; $p = 0,02$; OR = 3,28; 95%CI 1,18–9,11). Генотип *rs242941**C/C (75,00%) с более высокой частотой выявлялся у здоровых индивидов, чем у больных БА (51,16%; $p = 0,03$; OR = 0,35; 95%CI 0,13–0,91).

В результате исследования неравновесия по сцеплению полиморфных локусов *rs242939*, *rs1876828* и *rs242941* гена *CRHR1* в выборках русской, татарской и башкирской этнической принадлежности выявлено значительное неравновесие по сцеплению между двумя полиморфными локусами *rs242939* и *rs242941* во всех изученных группах ($D' = 0,63$ у русских, $D' = 0,63$ у татар и $D' = 1,0$ у башкир). Проведен гаплотипический анализ полиморфных вариантов гена *CRHR1* в выборках больных БА и контрольных группах различной этнической принадлежности. Установлено, что частота гаплотипа AA (*rs242939*, *rs242941*) у башкир, больных БА, была выше, чем в контрольной выборке (24,3% и 11,3% соответственно, $\chi^2 = 4,51$, $p = 0,03$).

Проведено исследование полиморфного варианта *rs2240017* (с.99C>G, p.His33Gln) гена транскрипционного фактора *TBX21* у больных БА и индивидов контрольной группы из РБ (табл. 6). Более распространенным во всех группах является аллель *rs2240017**C, выявленный в контрольной группе русских с частотой 98,65%, у татар — 98,78%, у башкир — 92,86%. Согласно данным литературы, в изученных европейских и азиатских популяциях также наиболее распространенным является аллель *rs2240017**C (88,2–97,3%) [19] (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>). Проведен-

ное нами исследование полиморфного варианта *rs2240017* гена *TBX21* не выявило статистически значимых различий частот аллелей и генотипов данного локуса между больными БА и контрольной группой ($p > 0,05$).

Помимо оценки влияния отдельных полиморфных вариантов на риск развития БА, с помощью программы GMDR (Generalized Multifactor-Dimensionality Reduction) были определены модели взаимодействия изученных ДНК-локусов генов. С использованием алгоритма «exhaustive» обнаружена статистически значимая трех-локусная модель взаимодействия полиморфных вариантов генов *NR3C1* (*rs41423247*), *CRHR1* (*rs242941*) и *TBX21* (*rs2240017*), ассоциированная с БА у татар ($p = 0,01$) (рисунок). Точность предсказания данной модели составила 58,25%, чувствительность — 66,33%, специфичность — 50,17%, воспроизводимость — 10 из 10. К сочетаниям повышенного риска развития заболевания (на рисунке выделены темно-серым цветом) были отнесены 8 различных комбинаций генотипов, из которых наиболее значимой оказалась: *rs41423247**C/G — *rs242941**A/C — *rs2240017**C/C ($p = 0,04$; OR = 2,40; CI95% 1,01–5,70), к сочетаниям пониженного риска — 6 сочетаний.

В каждой ячейке левый столбик представляет положительную скор-функцию, правый столбик — негативную скор-функцию по отношению к нулевой гипотезе, предполагающей отсутствие взаимодействий между исследуемыми факторами. Скор-функции, в данном случае, отражают частоты сочетаний генотипов анализируемых генов в выборках больных и контроля. В ячейке, где суммарное значение скор-функции повышено или снижено по отношению к заданному программой порогу («0»), сочетание генотипов классифицируется как «комбинация повышенного риска» или, соответственно, «пониженного риска».

Таблица 4

Анализ ассоциаций полиморфного варианта *rs41423247C>G* гена *NR3C1* с показателями функции внешнего дыхания у больных БА татар

	Генотип	n	Me (Q25; Q75), %	H (p)
ЖЕЛ	CC	24	76,0 (49,0; 92,75)	9,30 (0,009)
	CG	46	68,0 (48,75; 86,0)	
	GG	9	102,0 (82,50; 107,50)	
ОФВ1	CC	18	71,50 (48,0; 96,25)	6,81 (0,03)
	CG	39	61,0 (38,0; 100,0)	
	GG	6	112,0 (85,25; 149,50)	
МОС50	CC	23	64,0 (47,0; 100,0)	8,85 (0,01)
	CG	45	57,0 (33,0; 87,0)	
	GG	9	109,0 (85,0; 120,5)	
МОС75	CC	23	82,0 (61,0; 112,0)	7,98 (0,02)
	CG	45	65,0 (54,50; 97,0)	
	GG	7	118,0 (91,0; 130,0)	

Таблица 5

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов *rs242939A>G*, *rs1876828C>T*, *rs242941A>C* гена *CRHR1* у больных БА и в контрольной группе

		Генотипы						Аллели				N
		n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	
<i>rs242939A>G</i>		AA		AG		GG		A		G		
Больные БА	Русские	72 (85,71)	0,92	9 (10,71)	0,98	3 (3,57)	0,80	153 (91,07)	0,87	15 (8,93)	0,87	84
	Татары	97 (89,81)	0,37	10 (9,26)	0,53	1 (0,93)	0,82	204 (94,44)	0,27	12 (5,56)	0,27	108
	Башкиры	42 (95,45)	0,82	2 (4,55)	0,82	0	—	86 (97,73)	0,49	2 (2,27)	0,49	44
	В целом	313 (89,43)	0,59	31 (8,86)	0,68	6 (1,71)	0,72	657 (93,86)	0,53	43 (6,14)	0,53	350
Контроль	Русские	63 (85,14)	—	8 (10,81)	—	3 (4,05)	—	134 (90,54)	—	14 (9,46)	—	74
	Татары	71 (85,54)	—	10 (12,05)	—	2 (2,41)	—	152 (91,57)	—	14 (8,43)	—	83
	Башкиры	33 (91,67)	—	3 (8,33)	—	0	—	69 (95,83)	—	3 (4,17)	—	36
	В целом	251 (88,07)	—	28 (9,82)	—	6 (2,11)	—	530 (92,98)	—	40 (7,02)	—	285
<i>rs1876828C>T</i>		CC		CT		TT		C		T		
Больные БА	Русские	68 (80,95)	0,51	14 (16,67)	0,61	2 (2,38)	0,90	150 (89,29)	0,45	18 (10,71)	0,45	84
	Татары	84 (77,78)	0,48	21 (19,44)	0,65	3 (2,78)	0,81	189 (87,50)	0,38	27 (12,50)	0,38	108
	Башкиры	37 (86,05)	0,39	6 (13,95)	0,39	0	—	80 (93,02)	0,23	6 (6,98)	0,23	43
	В целом	275 (79,02)	0,13	68 (19,54)	0,12	5 (1,44)	0,76	618 (88,79)	0,16	78 (11,21)	0,16	348
Контроль	Русские	62 (84,93)	—	10 (13,70)	—	1 (1,37)	—	134 (91,78)	—	12 (8,22)	—	73
	Татары	68 (81,93)	—	14 (16,87)	—	1 (1,20)	—	150 (90,36)	—	16 (9,64)	—	83
	Башкиры	34 (94,44)	—	2 (5,56)	—	0	—	70 (97,22)	—	2 (2,78)	—	36
	В целом	238 (83,80)	—	42 (14,79)	—	4 (1,41)	—	518 (91,20)	—	50 (8,80)	—	284
<i>rs242941A>C</i>		CC		CA		AA		C		A		
Больные БА	Русские	45 (53,57)	0,13	33 (39,29)	0,42	6 (7,14)	0,23	123 (73,21)	0,09	45 (26,79)	0,09	84
	Татары	60 (55,56)	0,45	41 (37,96)	0,37	7 (6,48)	0,82	161 (74,54)	0,61	55 (25,46)	0,61	108
	Башкиры	22 (51,16)	0,03	19 (44,19)	0,02	2 (4,65)	0,74	63 (73,26)	0,08	23 (26,74)	0,08	43
Контроль	Русские	29 (41,43)	—	32 (45,71)	—	9 (12,86)	—	90 (64,29)	—	50 (35,71)	—	70
	Татары	50 (60,98)	—	26 (31,71)	—	6 (7,32)	—	126 (76,83)	—	38 (23,17)	—	82
	Башкиры	27 (75,00)	—	7 (19,44)	—	2 (5,56)	—	61 (84,72)	—	11 (15,28)	—	36

Обсуждение

Многочисленные фармакогенетические исследования у больных БА направлены на поиск кандидатных генов и изучение индивидуального ответа на лекарственные препараты. Задачей этих исследований является идентификация генетических вариантов с целью персонализированного подхода к терапии БА с минимальным риском побочных эффектов и максимальной эффективностью в отношении контроля заболевания. В рамках настоящей работы проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме глюкокортикостероидов (глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* (*rs41423247*), рецептора кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* (*rs242939*, *rs1876828*, *rs242941*) и транскрипционного фактора *TBX21* (*rs2240017*)), в развитии и течении БА у детей в Республике Башкортостан.

Ген глюкокортикоидного рецептора (*GR*; *NR3C1*) локализован в хромосомной области 5q31.3, регионе, по данным литературы, неоднократно ассоциированным с БА [6]. Потенциальная функциональная значимость полиморфных вариантов в гене *NR3C1* исследовалась в работе Stevens A. с соавторами. В результате анализа ассоциации 10 полиморфных локусов гена *NR3C1* с выработкой кортизола в ответ на дексаметазон у пациентов с псориазом и здоровых индивидов из Великобритании, установлен гаплотип GAT (*rs41423247*, *rs33389*, *rs33388*), статистически значимо ассоциированный с пониженным уровнем кортизола [7]. Полиморфный вариант *rs41423247* локализован во 2-м интроне гена *NR3C1* (с.1184+646C>G) и, предположительно,

участвует в альтернативном сплайсинге гена *NR3C1*, который приводит к измененной экспрессии изоформ рецептора [2].

По результатам наших исследований, больные БА, носители генотипов *rs41423247**C/C и *rs41423247**C/G полиморфного варианта *rs41423247* гена *NR3C1*, имели значительно сниженные показатели спирографии (ЖЕЛ, ОФВ1, МОС25, МОС50 и МОС75), по сравнению с носителями генотипа *rs41423247**G/G. Полученный результат наблюдался как в объединенной группе больных, так и в отдельной этнической группе татар. Генотип *rs41423247**C/G гена *NR3C1* является также маркером повышенного риска развития БА в выборке татар. Значительное снижение параметров спирографии в группе пациентов, носителей аллеля *rs41423247**C, свидетельствует о более низкой эффективности проводимой терапии ГКС.

Полученные нами результаты частично согласуются с данными Panek M. с соавторами, которые выявили гаплотип AAC (*rs6189/6190*, *rs6195*, *rs41423247*) гена *NR3C1*, ассоциированный у пациентов с БА с тревожными расстройствами, значительно коррелирующими с увеличением обструкции дыхательных путей и изменением спирометрических показателей [10]. Напротив, наши результаты противостоят данным работы Ждановой с соавторами, в которой дети из г. Санкт-Петербурга с генотипом *rs41423247**G/G характеризовались высоким уровнем IgE; более тяжелыми обострениями БА; самым низким значением ОФВ1/ФЖЕЛ в периоде обострения БА и более длительным использованием высоких доз кортикостероидов для достижения стабилизации.

Таблица 6

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *rs2240017C>G* гена транскрипционного фактора *TBX21* у больных БА и в контрольной группе

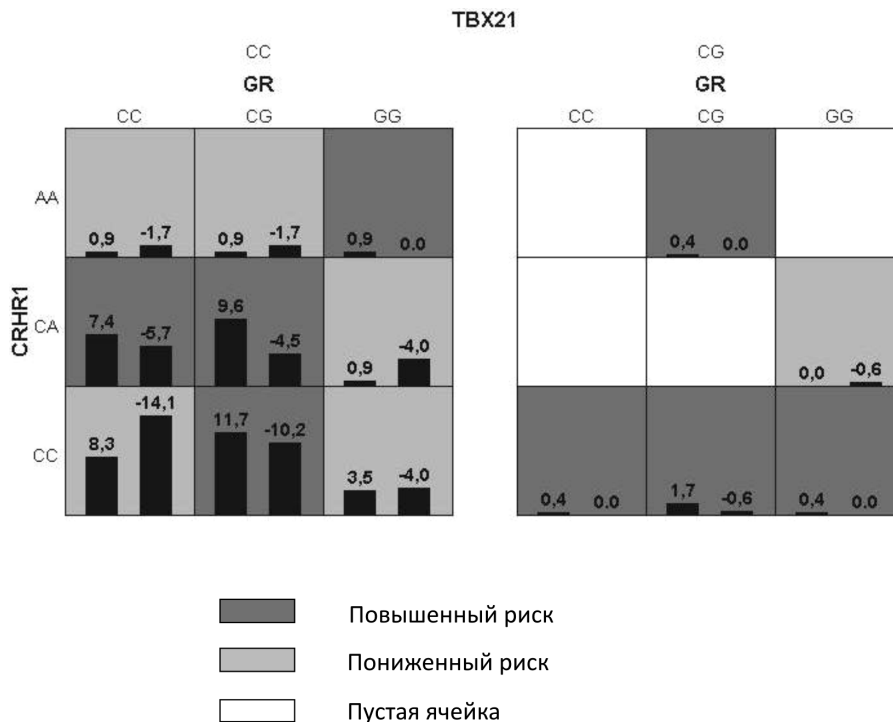
		Генотипы						Аллели				N
		CC		CG		GG		C		G		
		n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	
Больные БА	Русские	78 (96,30)	0,92	3 (3,70)	0,92	0	—	159 (98,15)	0,92	3 (1,85)	0,92	81
	Татары	100 (93,46)	0,33	7 (6,54)	0,33	0	—	207 (96,73)	0,19	7 (3,27)	0,19	107
	Башки- ры	40 (90,91)	0,71	2 (4,55)	0,26	2 (4,55)	0,61	82 (93,18)	0,94	6 (6,82)	0,94	44
	В целом	324 (94,19)	0,50	18 (5,23)	0,71	2 (0,58)	0,61	666 (96,80)	0,34	22 (3,20)	0,34	344
Конт- роль	Русские	72 (97,30)	—	2 (2,70)	—	0	—	146 (98,65)	—	2 (1,35)	—	74
	Татары	80 (97,56)	—	2 (2,44)	—	0	—	162 (98,78)	—	2 (1,22)	—	82
	Башки- ры	30 (85,71)	—	5 (14,29)	—	0	—	65 (92,86)	—	5 (7,14)	—	35
	В целом	270 (95,41)	—	13 (4,59)		0	—	553 (97,70)		13 (2,30)	—	283

ции состояния [8]. Ассоциация аллеля *rs41423247*G* с развитием тяжелой формы БА и устойчивостью к терапии глюкокортикостероидами была также установлена в работе Pietras T. с соавторами [9]. Отсутствие ассоциации полиморфного варианта *rs41423247* гена *NR3C1* с бронхиальной астмой выявлено в исследованиях ученых из Польши [11, 12]. Противоречивые результаты работ различных авторов могут быть связаны с разными условиями исследований, к которым относятся сопутствующая терапия (использование β 2-агонистов, антагонистов лейкотриенов), возрастная категория обследованных пациентов (взрослые или дети) и популяционные различия.

Ген рецептора кортикотропин-рилизинг гормона 1 типа *CRHR1* расположен на участке хромосомы 17q21-q22 и является одним из генов, участвующих в патогенезе БА и определяющих чувствительность пациентов к терапии глюкокортикостероидами. На основании проведенного нами исследования установлена ассоциация генотипа *rs242941*G/A* и гаплотипа *AA* (*rs242939*, *rs242941*) гена *CRHR1* с риском развития бронхиальной астмы у башкир. Выявлена ассоциация генотипа *rs1876828*C/T* гена *CRHR1* со значительным снижением показателей функции внешнего дыхания (МОС50).

При исследовании полиморфных локусов в гене *CRHR1* на выборках больных БА и контрольной группы из США показана ассоциация гаплотипа *GAT* (*rs1876828*, *rs242939*, *rs242941*) с двукратным увеличе-

нием ОФВ1 у взрослых и с трехкратным увеличением ОФВ1 у детей в ответ на ингаляцию кортикостероидов [13]. В исследовании Tsartsali L. с соавторами на выборке детей с БА из Греции, находящихся на длительной терапии ИГКС, выявлена ассоциация генотипов *rs242941*T/T* (*rs242941*A/A*) и *rs1876828*G/G* (*rs1876828*C/C*) по полиморфным вариантам гена *CRHR1* со снижением синтеза кортизола в ответ на стресс на фоне лечения ИГКС, что свидетельствует об угнетении функции коры надпочечников [14]. Ассоциация генотипа *rs242941*T/T* с хорошим ответом на системные глюкокортикостероиды выявлена у детей с БА из Индии [15]. В то же время, описано улучшение функции легких (ОФВ1) у носителей генотипа *rs242941*G/G* (*rs242941*C/C*) в выборке пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) из Кореи, находящихся на терапии ИГКС в течение 12 недель [16]. В работе Dijkstra A. с соавторами выявлено отсутствие ассоциации полиморфных вариантов гена *CRHR1* с улучшением ОФВ1 у взрослых, получающих терапию ИГКС [17]. В целом, работы, посвященные исследованию гена *CRHR1* у больных БА, немногочисленны и противоречивы, несмотря на то, что кортикотропин-рилизинг гормон является основным стимулятором секреции адренокортикотропного гормона, который регулирует уровень эндогенного кортизола и может оказывать влияние на эффективность терапии кортикостероидами, назначаемыми астматикам экзогенно [18].



Сочетания генотипов полиморфных локусов генов *NR3C1* (*rs41423247*), *CRHR1* (*rs242941*) и *TBX21* (*rs2240017*), ассоциированные с повышенным и пониженным риском развития бронхиальной астмы у татар.

Ген *TBX21* кодирует ядерный транскрипционный фактор T-bet, который экспрессируется в Th1-лимфоцитах и антигенпрезентирующих клетках, включая дендритные, и является необходимым транскрипционным фактором для продукции интерферона дендритными клетками и антигенспецифичной активации Th1-клеток *in vivo*. У мышей, нокаутированных по данному гену, наблюдается развитие аллергического воспаления и гиперреактивности легких, что предполагает участие белкового продукта гена *TBX21* в патогенезе астмы [34]. В нашем исследовании на выборках из РБ проведен анализ полиморфного варианта *rs2240017* гена *TBX21*, в результате которого не установлено ассоциации данного локуса с риском развития БА. Аллель *rs2240017*G* встречается с низкой частотой у индивидов, проживающих в РБ (3,20% у больных БА и 2,30% в контрольной группе). По литературным данным, на выборке детей из мультицентрового исследования CAMP (Childhood Asthma Management Program) установлена ассоциация полиморфного варианта *rs9910408* гена *TBX21* с бронхиальной гиперреактивностью [19]. При исследовании полиморфного варианта *rs2240017* в гене *TBX21* Tantisira K.G. с соавторами обнаружено, что носители аллеля *rs2240017*G*, получавшие ИГКС, демонстрировали увеличение уровня PC20 (провокационной концентрации М-холиностимулятора метахолина, вызывающей 20%-ное падение ОФВ1), что свидетельствует об уменьшении гиперреактивности бронхов [20]. В исследовании, выполненном Ye Y.M. с соавторами, также было продемонстрировано, что аллель *rs2240017*G* ассоциирован с более высоким уровнем контроля БА на фоне терапии ИГКС [21].

Таким образом, проведено ассоциативное исследование полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме глюкокортикостероидов, у детей, больных бронхиальной астмой, и в соответствующей контрольной группе из РБ. Установлено, что генотип *rs41423247*С/С* полиморфного варианта *rs41423247* гена глюкокортикостероидного рецептора *NR3C1* ассоциирован со значительным снижением параметров спирометрии (ЖЕЛ, ОФВ1, МОС25 и МОС50) у больных БА. Генотип *rs41423247*С/С* является маркером повышенного риска развития бронхиальной астмы у татар. Снижение параметров спирометрии отмечено в группе пациентов с генотипом *rs41423247*С/С* гена *NR3C1*, по сравнению с детьми, имеющими аллель *rs41423247*G* как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии. Установлена ассоциация генотипа *rs1876828*С/Т* полиморфного варианта *rs1876828* гена кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* со снижением показателей функции внешнего дыхания (МОС50). Выявлено, что для башир маркерами повышенного риска развития заболевания являются генотип *rs242941*С/А* полиморфного варианта *rs242941* гена *CRHR1* и гаплотип АА (*rs242939*, *rs242941*), а генотип *rs242941*С/С* является маркером пониженного риска развития БА. Установлено межгенное взаимодействие полиморфных локусов генов

NR3C1, *CRHR1* и *TBX21*, детерминирующее развитие бронхиальной астмы у татар. Полученные в работе данные имеют существенное значение для прогнозирования течения заболевания у конкретного пациента и оптимизации подбора индивидуальной базисной терапии БА с учетом генотипов полиморфных вариантов генов глюкокортикоидного рецептора и рецептора кортикотропин-рилизинг гормона.

Список литературы

1. GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. — 2015. — P. 1—149.
2. Van Rossum E.F.C., Lamberts S.W.J. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition // Recent Progress in Hormone Research Journal. — 2004. — Vol. 59. — P. 333—357.
3. Portelli M., Sayers I. Genetic basis for personalized medicine in asthma // Expert Rev. Respir. Med. — 2012. — Vol. 6(2). — P. 223—236.
4. Ortega V.E., Meyers D.A., Bleecker E.R. Asthma pharmacogenetics and the development of genetic profiles for personalized medicine // Pharmacogenomics Pers. Med. — 2015. — Vol. 8. — P. 9—22.
5. Fleury I., Beaulieu P., Primeau M. et al. Characterization of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene // Clin. Chem. — 2003. — Vol. 49(9). — P. 1529—1531.
6. Szalai C., Ungvari I., Pelyhe L. et al. Asthma from a pharmacogenomic point of view // Br. J. Pharmacol. — 2008. — Vol. 153(8). — P. 1602—1614.
7. Stevens A., Ray D.W., Zeggini E. et al. Glucocorticoid sensitivity is determined by a specific glucocorticoid receptor haplotype // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2004. — Vol. 89(2). — P. 892—897.
8. Жданова М.В., Богданова М.А., Войтович А.Н. и др. Особенности течения бронхиальной астмы у детей с различными генотипами BclI-полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора // Педиатрия. — 2007. — Т. 86(4). — С. 19—24.
Zhdanova M.V., Bogdanova M.A., Voytovich A.N. i dr. Osobennosti techeniya bronkhial'noy astmy u detey s razlichnymi genotipami BclI-polimorfizma gena glyukokortikoidnogo retseptora // Pediatriya. — 2007. — Vol. 86(4). — P. 19—24.
9. Pietras T., Panek M., Tworek D. et al. The Bcl I single nucleotide polymorphism of the human glucocorticoid receptor gene h-GR/NR3C1 promoter in patients with bronchial asthma: pilot study // Mol. Biol. Rep. — 2011. — Vol. 38. — P. 3953—3958.
10. Panek M., Pietras T., Szemraj J. et al. Association analysis of the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) haplotypes (ER22/23EK, N363S, BclI) with mood and anxiety disorders in patients with asthma // Exp. Ther. Med. — 2014. — Vol. 8. — P. 662—670.
11. Szczepankiewicz A., Breborowicz A., Sobkowiak P. et al. No association of glucocorticoid receptor polymorphisms with asthma and response to glucocorticoids // Adv. Med. Sci. — 2008. — Vol. 53(2). — P. 245—250.
12. Panek M., Pietras T., Fabjan A. et al. Effect of glucocorticoid receptor gene polymorphisms on asthma phenotypes // Exp. Ther. Med. — 2013. — Vol. 5. — P. 572—580.
13. Tantisira K.G., Lake S., Silverman E.S. et al. Corticosteroid pharmacogenetics: association of sequence variants in CRHR1 with improved lung function in asthmatics treated with inhaled corticosteroids // Hum. Mol. Genet. — 2004. — Vol. 13(13). — P. 1353—1359.

14. Tsartsali L., Papadopoulos M., Lagona E. et al. Association of hypothalamic-pituitary-adrenal axis-related polymorphisms with stress in asthmatic children on inhaled corticosteroids // *Neuroimmunomodulation*. — 2012. — Vol. 19(2). — P. 88–95.
15. Awasthi S., Gupta S., Agarwal S. et al. CRHR1 gene SNPs and response to systemic corticosteroids in Indian asthmatic children during acute exacerbation // *Indian J. Pediatr.* — 2015. — Vol. 82(9). — P. 781–786.
16. Kim W.J., Sheen S.S., Kim T.-H. et al. Association between CRHR1 polymorphism and improved lung function in response to inhaled corticosteroid in patients with COPD // *Respirology*. — 2009. — Vol. 14. — P. 260–263.
17. Dijkstra A., Koppelman G.H., Vonk J.M. et al. Pharmacogenomics and outcome of asthma: no clinical application for long-term steroid effects by CRHR1 polymorphisms // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2008. — Vol. 121(6). — P. 1510–1513.
18. Drolet G., Rivest S. Corticotropin-releasing hormone and its receptors; an evaluation at the transcription level in vivo // *Peptides*. — 2001. — Vol. 22. — P. 761–767.
19. Raby B.A., Hwang E.-S., Steen K.V. et al. T-Bet polymorphisms are associated with asthma and airway hyperresponsiveness // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2006. — Vol. 173. — P. 64–70.
20. Tantisira K.G., Hwang E.S., Raby B.A. et al. TBX21: a functional variant predicts improvement in asthma with the use of inhaled corticosteroids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2004. — Vol. 101(52). — P. 18099–18104.
21. Ye Y.M., Lee H.Y., Kim S.H. et al. Pharmacogenetic study of the effects of NK2R G231E G>A and TBX21H33Q C>G polymorphisms on asthma control with inhaled corticosteroid treatment // *J. Clin. Pharm. Ther.* — 2009. — Vol. 34. — P. 693–701.
22. Tantisira K.G., Lasky-Su J., Harada M. et al. Genomewide Association between GLCCI1 and response to glucocorticoid therapy in asthma // *N. Engl. J. Med.* — 2011. — Vol. 365(13). — P. 1173–1183.
23. Tantisira K.G., Damask A., Szeftler S.J. et al. Genome-wide association identifies the T Gene as a novel asthma pharmacogenetic locus // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2012. — Vol. 185(12). — P. 1286–1291.
24. Himes B.E., Jiang X., Hu R. et al. Genome-wide association analysis in asthma subjects identifies SPATS2L as a novel bronchodilator response gene // *PLoS Genetics*. — 2012. — Vol. 8(7). — e1002824.
25. Duan Q.L., Lasky-Su J., Himes B.E. et al. A genome-wide association study of bronchodilator response in asthmatics // *Pharmacogenomics J.* — 2014. — Vol. 14(1). — P. 41–47.
26. Dahlin A., Litonjua A., Lima J.J. et al. Genome-wide association study identifies novel pharmacogenomic loci for therapeutic response to montelukast in asthma // *PLoS One*. — 2015. — Vol. 10(6). — e0129385.
27. Под ред. Чучалина А.Г. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики». — М.: Атмосфера, 2008. — 108 с.
- Pod red. Chuchalina A.G. Natsional'naya programma «Bronkhial'naya astma u detey. Strategiya lecheniya i profilaktika». — M.: Atmosfera, 2008 — 108 с.
28. Клемент Р.Ф., Зильбер Н.А. Функционально-диагностические исследования в пульмонологии: Методические рекомендации. — СПб., 1993. — 43 с.
- Klement RF, Zil'ber HA. Funktsional'no-diagnosticheskie issledovaniya v pul'monologii: metodicheskie rekomendatsii. — S-Pb., 1993. — 43 с.
29. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods Mol. Med.* — 1984. — Vol. 2. — P. 31–34.
30. Rozen S, Skaletsky HJ. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers // *Methods Mol. Biol.* — 2000. — Vol. 132. — P. 365–366.
31. Barrett J.C., Fry B., Maller J. et al. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps // *Bioinformatics*. — 2005. — Vol. 21(2). — P. 263–265.
32. Lou X.-Y., Chen G.-B., Yan L. et al. A generalized combinatorial approach for detecting gene-by-gene and gene-by-environment interactions with application to nicotine dependence // *Am. J. Hum. Genet.* — 2007. — Vol. 80. — P. 1125–1135.
33. Sharma N., Awasthi S., Phadke S.R. A novel genotyping method for detection of the CRHR1 (rs1396862: C>T) gene variation among North Indian population // *Mol. Biol. Rep.* — 2014. — Vol. 41(5). — P. 2809–2813.
34. Finotto S., Neurath M.F., Glickman J.N. et al. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet // *Science*. — 2002. — Vol. 295. — P. 336–338.

Role of polymorphisms of genes involved in glucocorticoid metabolism in the risk of bronchial asthma

Fedorova Y.Y.¹, Karunas A.S.^{1,2}, Gimalova G.F.¹, Murzina R.R.³, Gatiyatullin R.F.³, Etkina E.I.³, Khusnutdinova E.K.^{1,2}

¹ — Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, e-mail: molgen@anrb.ru
71, Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia

² — Bashkir State University, 32 Zaki Validi st, Ufa, 450076, Russia

³ — Bashkir State Medical University, 3 Lenin st, Ufa, 4500, Russia

Bronchial asthma is one of the most common severe and disabling multifactorial diseases. The association analysis of polymorphisms of glucocorticoid receptor gene *NR3C1* (*rs41423247*), corticotropin-releasing hormone receptor 1 gene *CRHR1* (*rs242939*, *rs1876828*, *rs242941*), T-box transcription factor gene *TBX21* (*rs2240017*) in asthmatic patients treated with corticosteroids and unrelated healthy from Bashkortostan Republic was performed. The association of *NR3C1* polymorphism *rs41423247* with decline in lung functions in patients has been revealed. The genotype *rs242941**C/A and haplotype AA (*rs242939*, *rs242941*) of gene *CRHR1* were significantly associated with BA in Bashkirs, while the genotype *rs41423247**C/G of gene *NR3C1* was associated with BA in Tatars.

Key words: bronchial asthma, polymorphism, genes involved in glucocorticoid metabolism, association