

# ***Исследование генов предрасположенности к бронхиальной астме и аллергическому риниту***

***Отчет за 2012 г.  
научного сотрудника  
лаборатории молекулярной генетики  
человека к.б.н. Федоровой Ю.Ю.***



# Задачи исследования:

- Изучение полиморфных вариантов генов глюкокортикоидного рецептора (*NR3C1*), рецептора кортикотропин-рилизинг-фактора (*CRHR1*), участвующих в патогенезе бронхиальной астмы и определяющих чувствительность пациентов к терапии глюкокортикостероидами.
- Анализ полиморфных вариантов генов ORM1-подобного белка 3 (*ORMDL3*), гасдермина В (*GSDML*) у больных бронхиальной астмой, аллергическим ринитом и здоровых индивидов, а также изучение экспрессии данных генов в лейкоцитах периферической крови.

## **Материал исследования:**

| <b>Этническая принадлежность</b> | <b>Больные БА (N)</b> | <b>Контрольная группа (N)</b> |
|----------------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| <b>Русские</b>                   | <b>218</b>            | <b>142</b>                    |
| <b>Татары</b>                    | <b>175</b>            | <b>115</b>                    |
| <b>Башкиры</b>                   | <b>104</b>            | <b>55</b>                     |
| <b>В целом</b>                   | <b>702</b>            | <b>435</b>                    |

Число детей, больных БА – 418,  
Число пациентов старше 18 лет – 284

|                        | <b>Больные БА (N)</b> |
|------------------------|-----------------------|
| <b>аллергическая</b>   | <b>457</b>            |
| <b>неаллергическая</b> | <b>121</b>            |
| <b>смешанная</b>       | <b>87</b>             |
| <b>легкая</b>          | <b>208</b>            |
| <b>средне-тяжелая</b>  | <b>322</b>            |
| <b>тяжелая</b>         | <b>163</b>            |

**Выборка пациентов в зависимости от формы и степени тяжести БА**



# Лекарственные средства для лечения БА

## Препараты для базисной (поддерживающей терапии)

β<sub>2</sub>-агонисты длительного действия

Антилейкотриеновые препараты

Системные глюкокортикостероиды

Ингаляционные глюкокортикостероиды

## Средства неотложной помощи

β<sub>2</sub>-агонисты быстрого действия

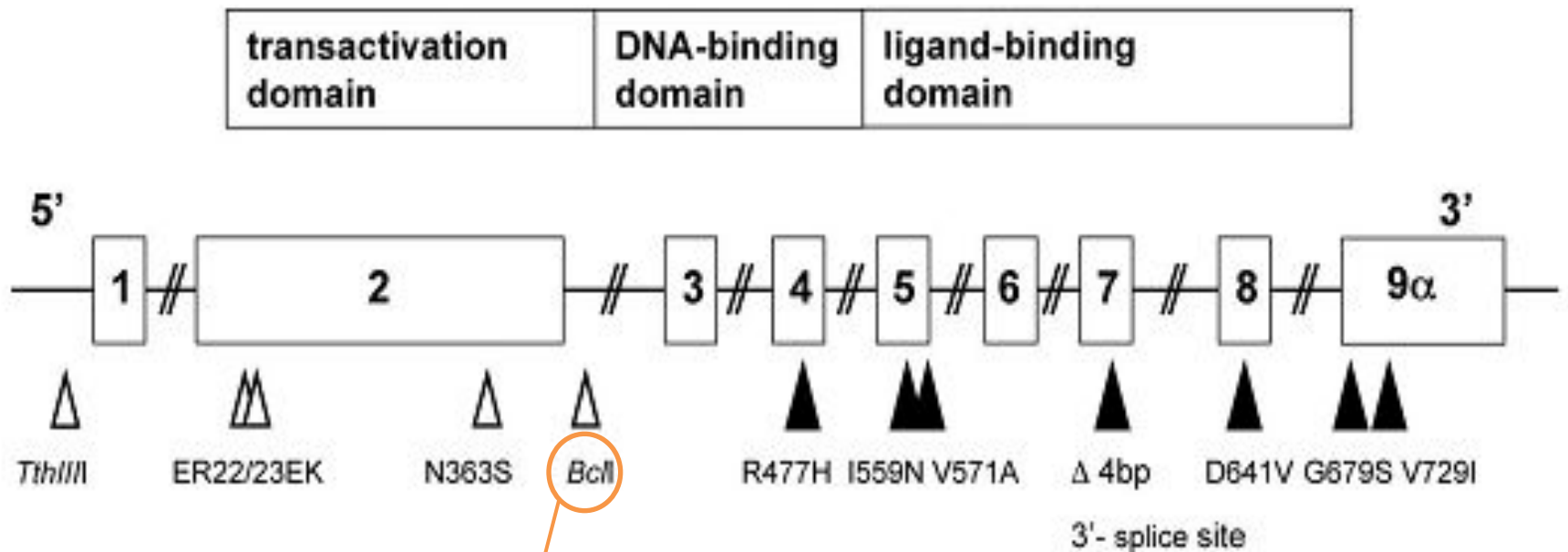
Антихолинергические препараты

Теофиллин

# Ассоциация полиморфных вариантов генов-кандидатов с эффективностью лекарственной терапии бронхиальной астмы

| Лекарственные средства для лечения БА | Гены                                                                                              | Фармакогенетический эффект                                                                        |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| b2-агонисты                           | <b>ADRB2</b><br>(Arg16Gly,<br>Gln27Glu)                                                           | Ассоциация с<br>вариабельностью ответа на<br>терапию b2-агонистами                                |
| Глюкокортико-<br>стероиды (ГКС)       | <b>GR/NR3C1</b><br>(rs41423247)<br><b>CRHR1</b><br>(rs242941)                                     | Ассоциация с терапевтической<br>резистентностью и изменением<br>чувствительности к ГКС<br>терапии |
| Антилейкотриено-<br>вые препараты     | <b>LTC4SC</b><br>(A-444C,<br>rs272431)<br><b>ALOX5</b><br>(rs2115189,<br>rs4987105,<br>rs4986832) | Ассоциация с различным<br>клиническим ответом на<br>воздействие ингибиторов<br>лейкотриенов       |

# Ген глюкокортикоидного рецептора (GR/NR3C1)

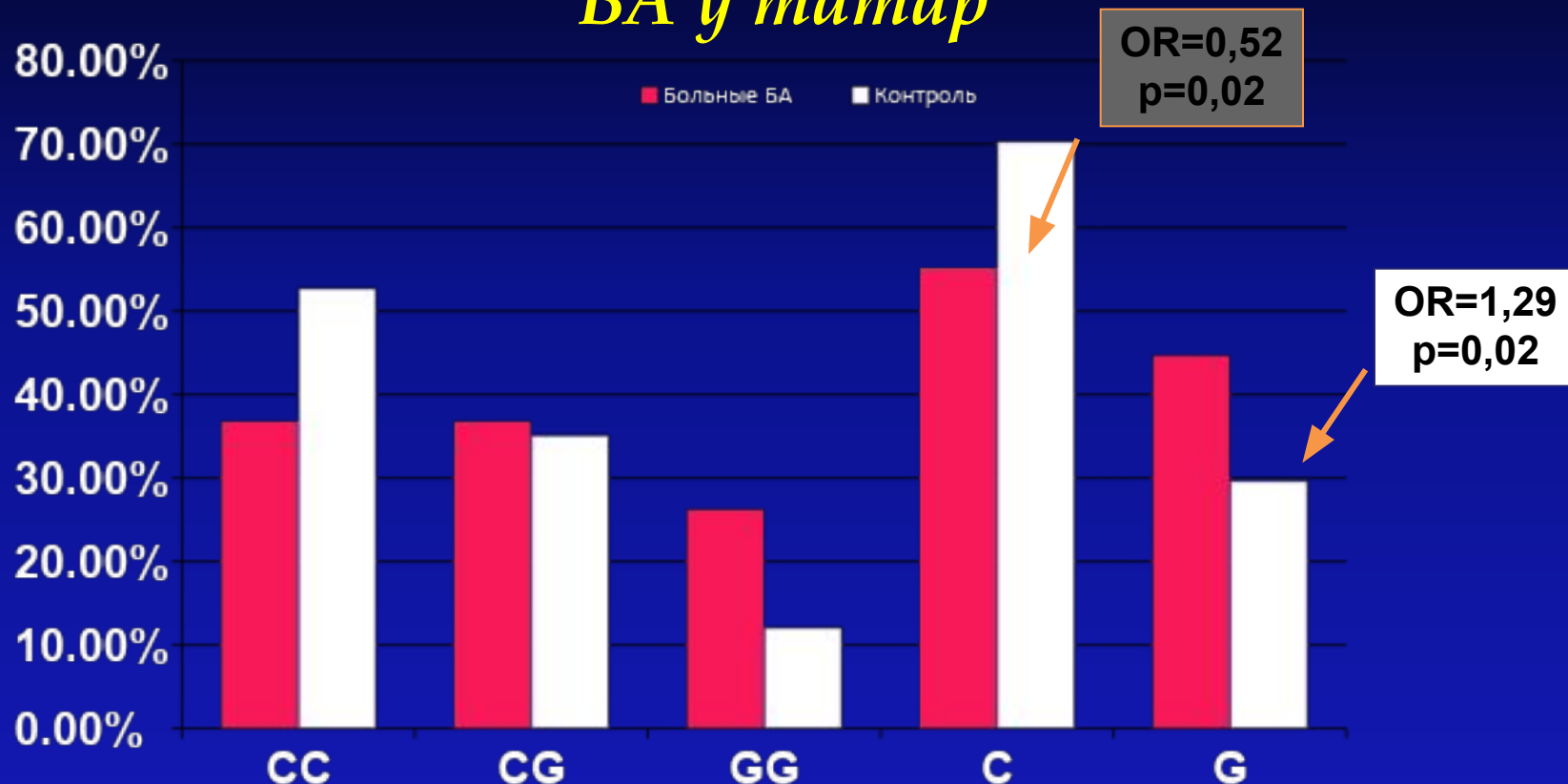


rs41423247  
(+646C/G)

Частота аллеля  
в европейских популяциях:

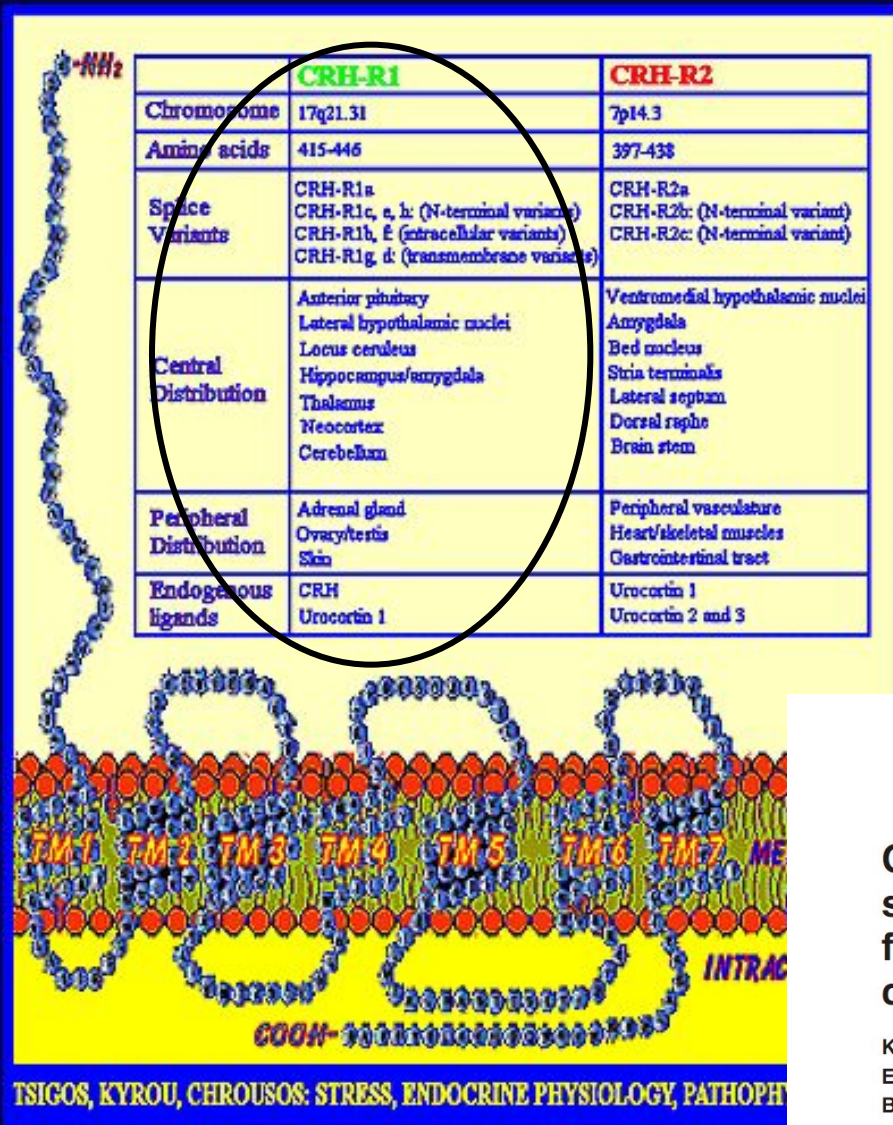
+646G - 35%

# Ассоциация полиморфного варианта гена GR (rs41423247 (+646C/G)) с тяжелой формой БА у татар



По литературным данным, пациенты с генотипом **rs41423247\*G/G** характеризуются более тяжелыми обострениями БА; самыми низкими значениями ОФВ1/ФЖЕЛ в периоде обострения БА и более длительным использованием высоких доз ГКС для достижения стабилизации состояния [Жданова М.В. и др., 2007]

# Ген рецептора кортикотропин-рилизинг-фактора *CRHR1*



***Rs242939 A>G***

**Частота аллеля  
в европейских популяциях:  
6-7%**

***Rs1876828 C>T***

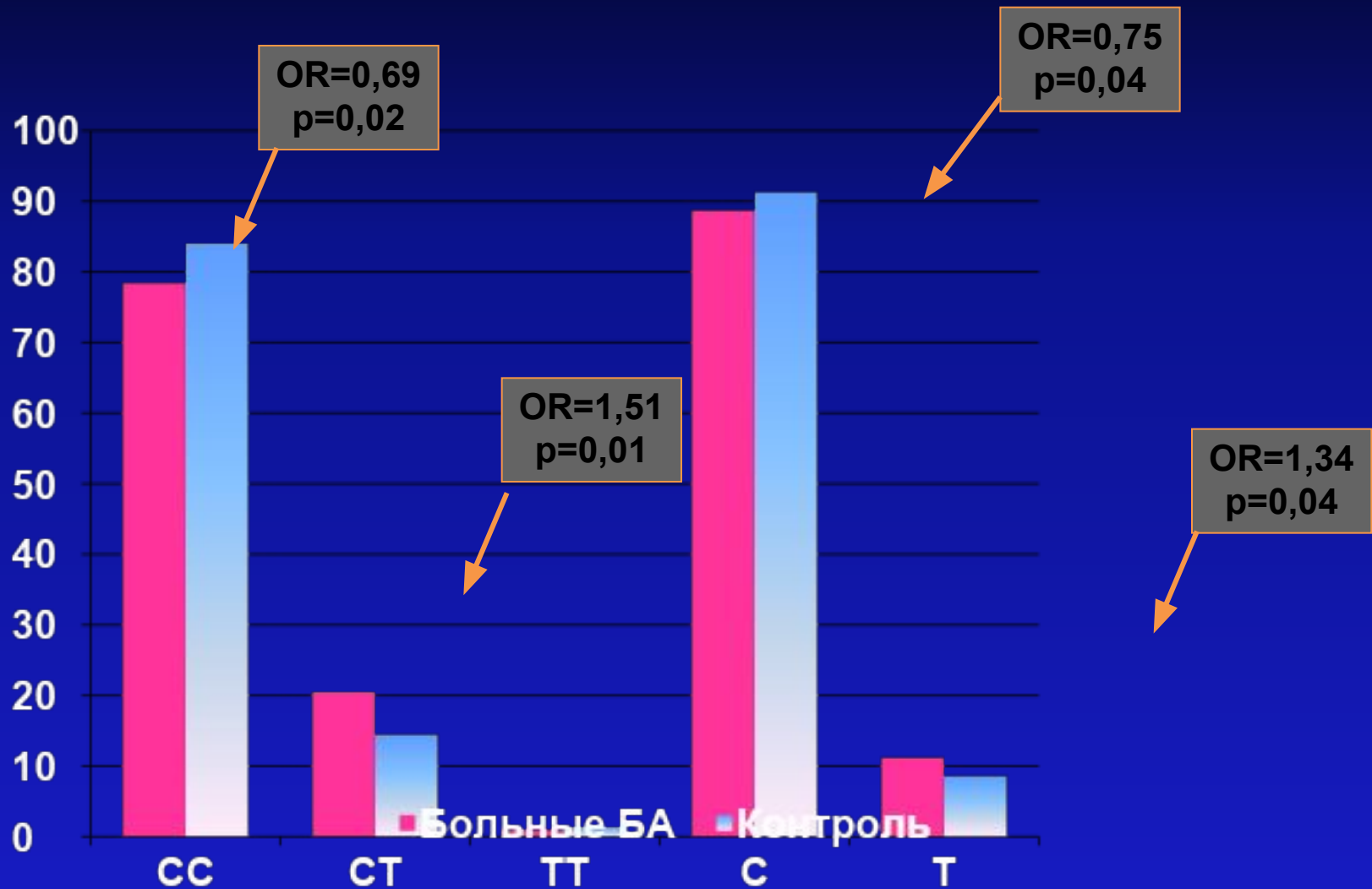
**Частота аллеля  
в европейских популяциях:  
22-24%**

*Human Molecular Genetics*, 2004, Vol. 13, No. 13 1353–1359  
DOI: 10.1093/hmg/ddh149  
Advance Access published on May 5, 2004

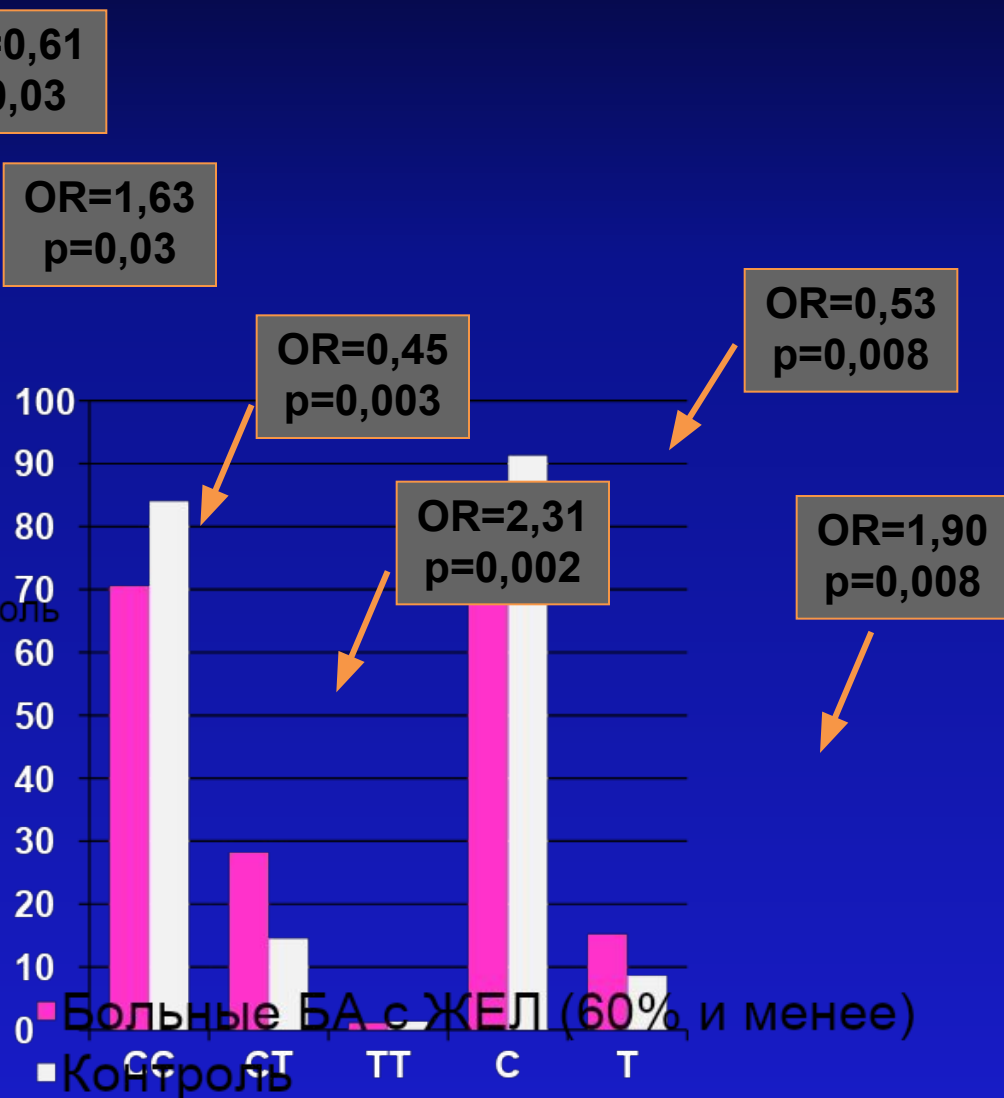
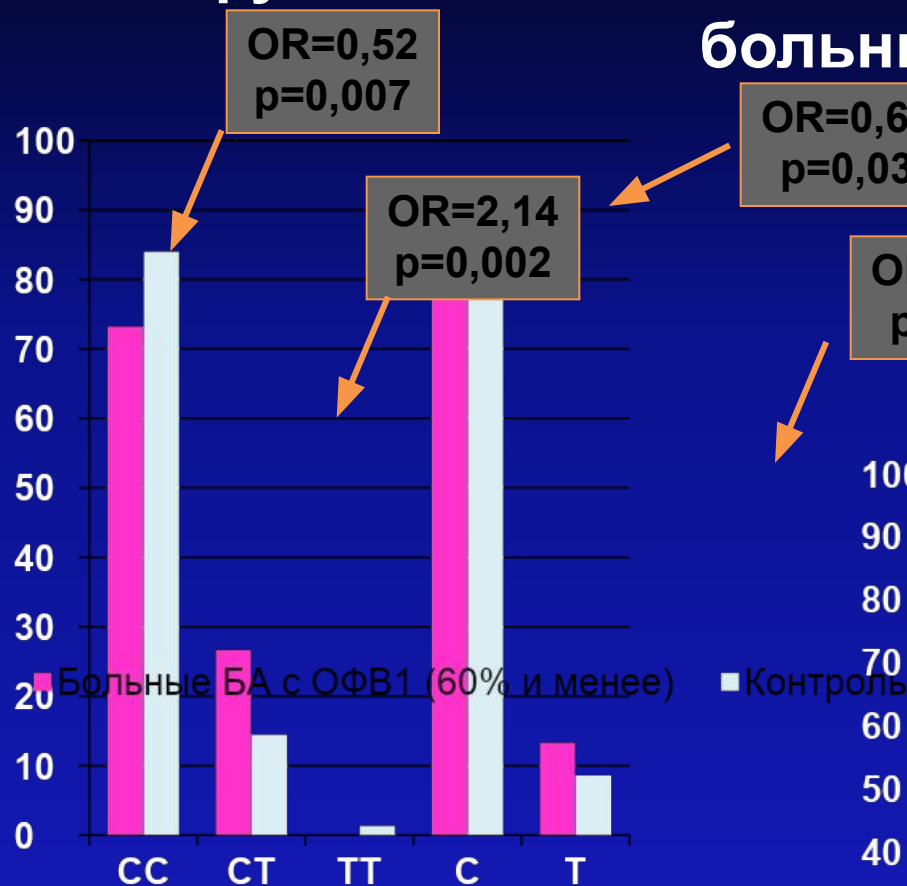
**Corticosteroid pharmacogenetics: association of sequence variants in *CRHR1* with improved lung function in asthmatics treated with inhaled corticosteroids**

Kelan G. Tantirira<sup>1,2</sup>, Stephen Lake<sup>1</sup>, Eric S. Silverman<sup>2</sup>, Lyle J. Palmer<sup>3</sup>, Ross Lazarus<sup>1</sup>, Edwin K. Silverman<sup>1,2</sup>, Stephen B. Liggett<sup>4</sup>, Erwin W. Gelfand<sup>5</sup>, Lanny J. Rosenwasser<sup>5</sup>, Brent Richter<sup>1</sup>, Elliot Israel<sup>2</sup>, Michael Wechsler<sup>1,2</sup>, Stacey Gabriel<sup>6,8</sup>, David Altshuler<sup>6,7,8</sup>, Eric Lander<sup>6,8</sup>, Jeffrey Drazen<sup>2</sup> and Scott T. Weiss<sup>1,\*</sup>

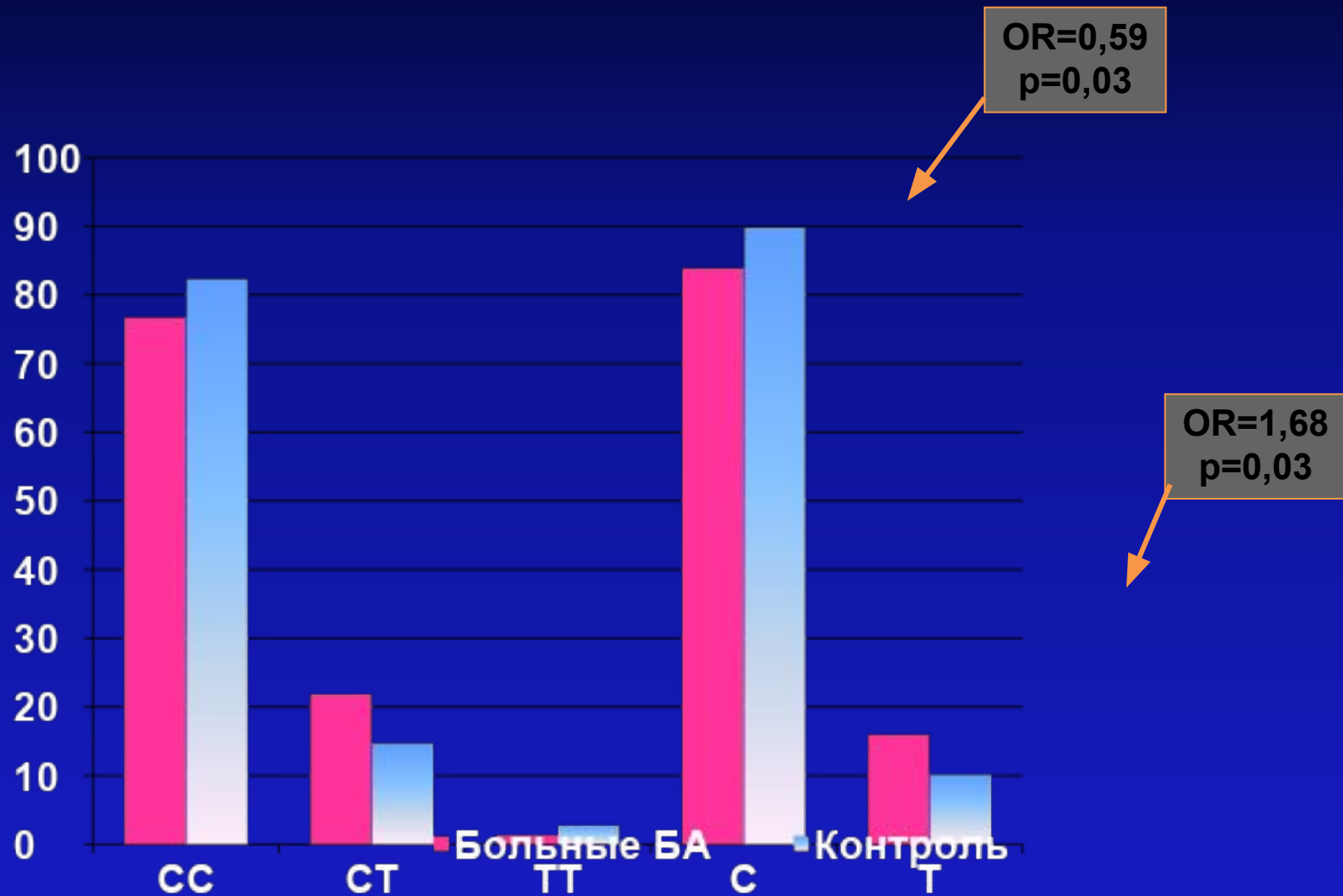
# Ассоциация полиморфного варианта гена **CRHR1** (**rs1876828 C>T**) с риском развития бронхиальной астмы



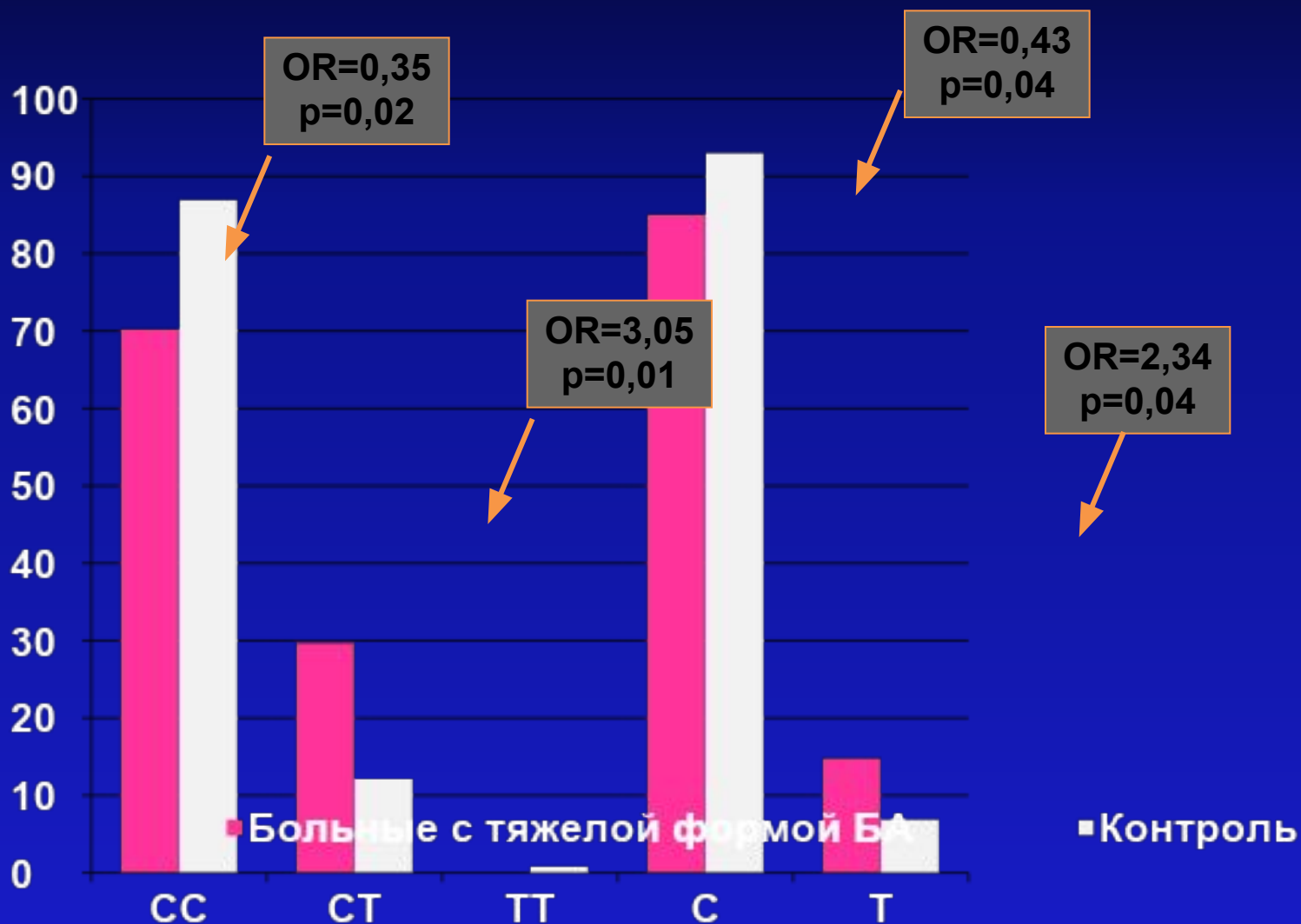
# Ассоциация полиморфного варианта гена **CRHR1** (**rs1876828 C>T**) со сниженными показателями функции внешнего дыхания (ОФВ1, ЖЕЛ) у больных БА



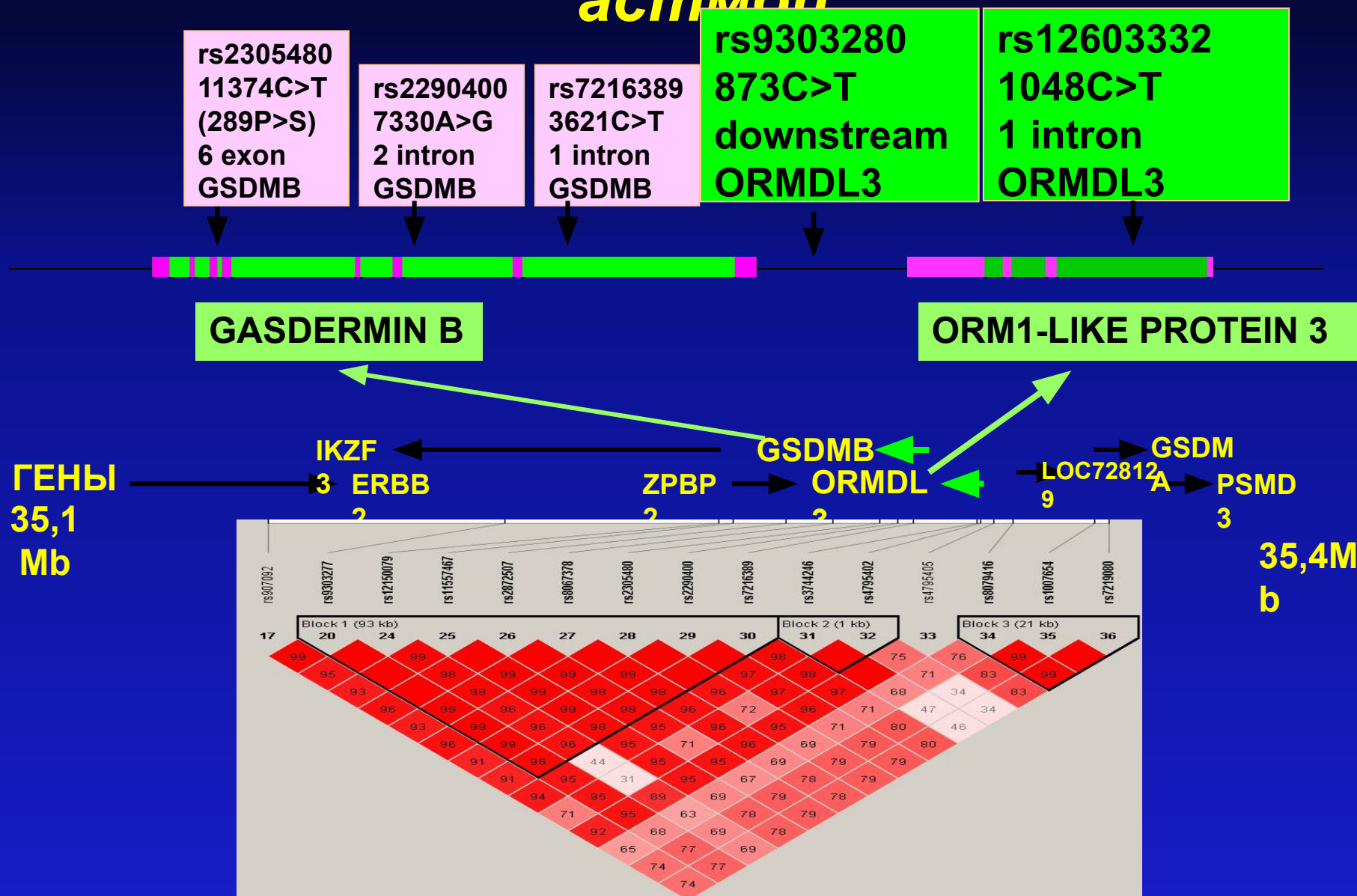
# Ассоциация полиморфного варианта гена **CRHR1** (**rs1876828 C>T**) с БА у индивидов русской этнической принадлежности



# Ассоциация полиморфного варианта гена **CRHR1** (**rs1876828 C>T**) с тяжелой формой БА у индивидов татарской этнической принадлежности



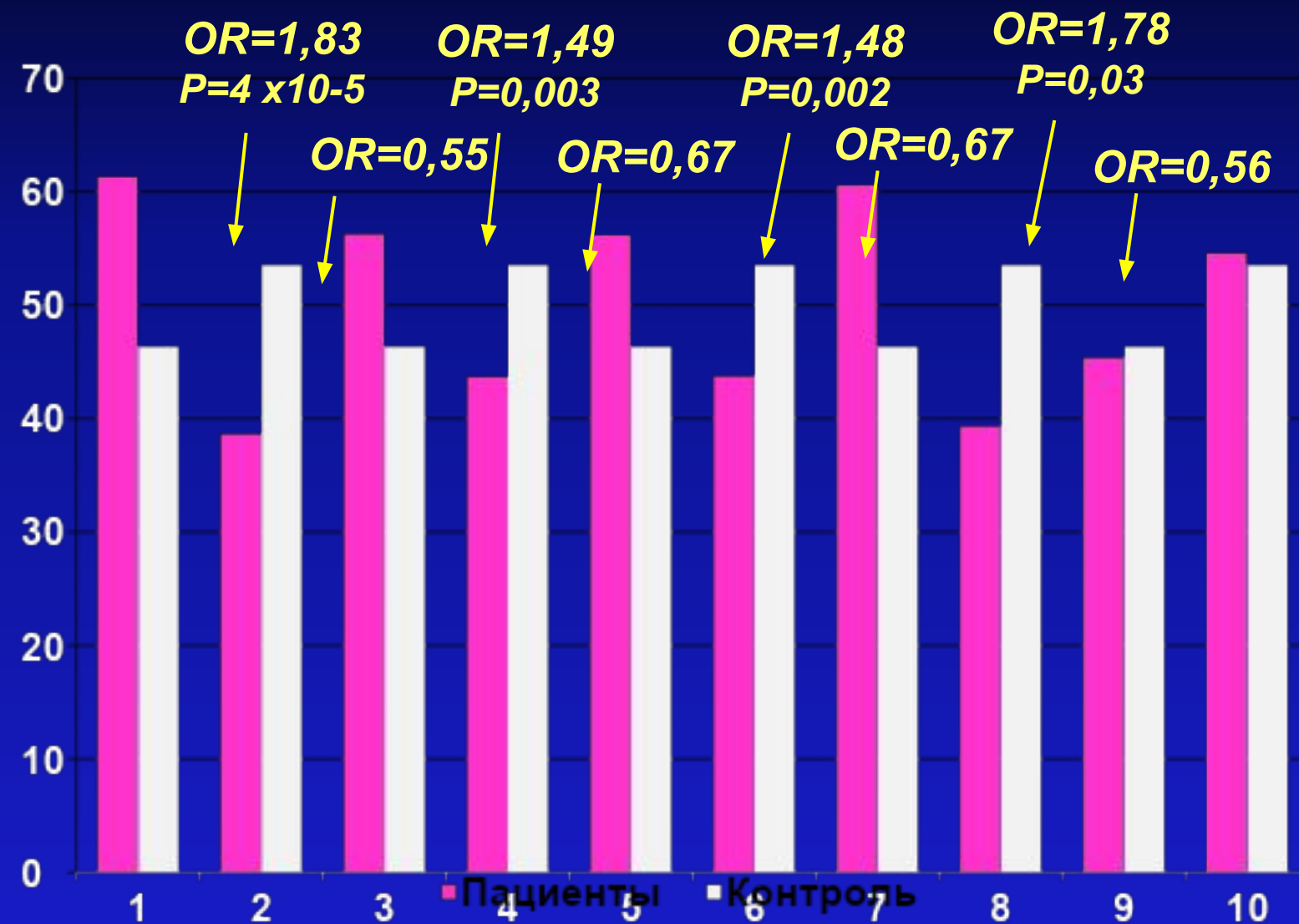
# Локализация SNPs в области 17q12, ассоциированных с бронхиальной астмой



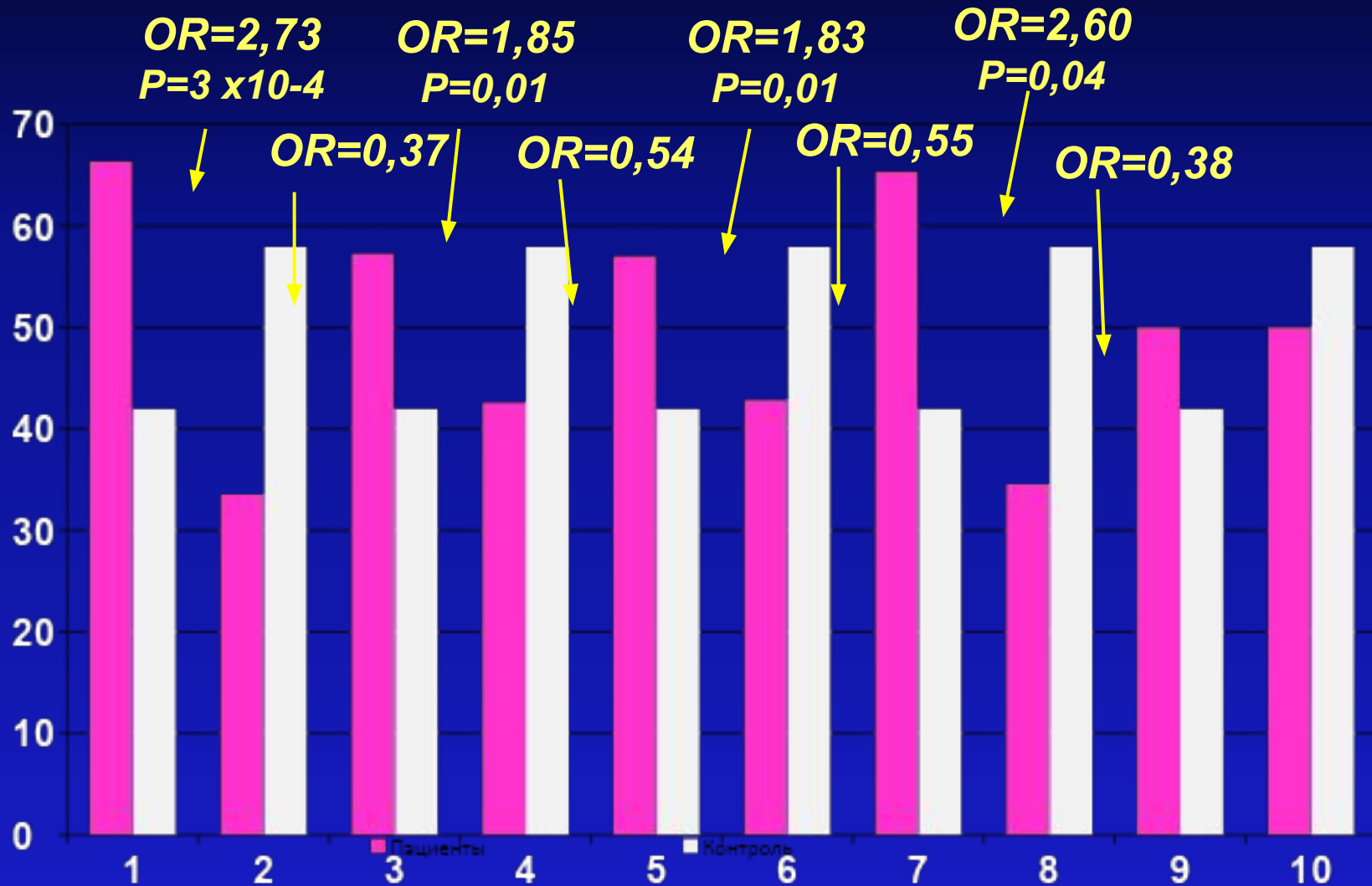
## **Материал исследования:**

|                             | <b>Объединенная<br/>выборка</b> | <b>Русские</b> | <b>Татары</b> | <b>Башкиры</b> |
|-----------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|----------------|
| Общая выборка<br>больных БА | 261                             | 90             | 62            | 14             |
| Общая выборка<br>больных АР | 342                             | 133            | 64            | 17             |
| Больные БА, АР<br>и АД      | 116                             | 43             | 22            | 4              |
| Больные БА<br>(без АР и АД) | 46                              | 16             | 9             | 1              |
| Больные АР<br>(без БА и АД) | 78                              | 30             | 8             | 2              |
| Общая выборка<br>больных АЗ | 484                             | 175            | 90            | 21             |
| Контроль                    | 183                             | 45             | 44            | 24             |

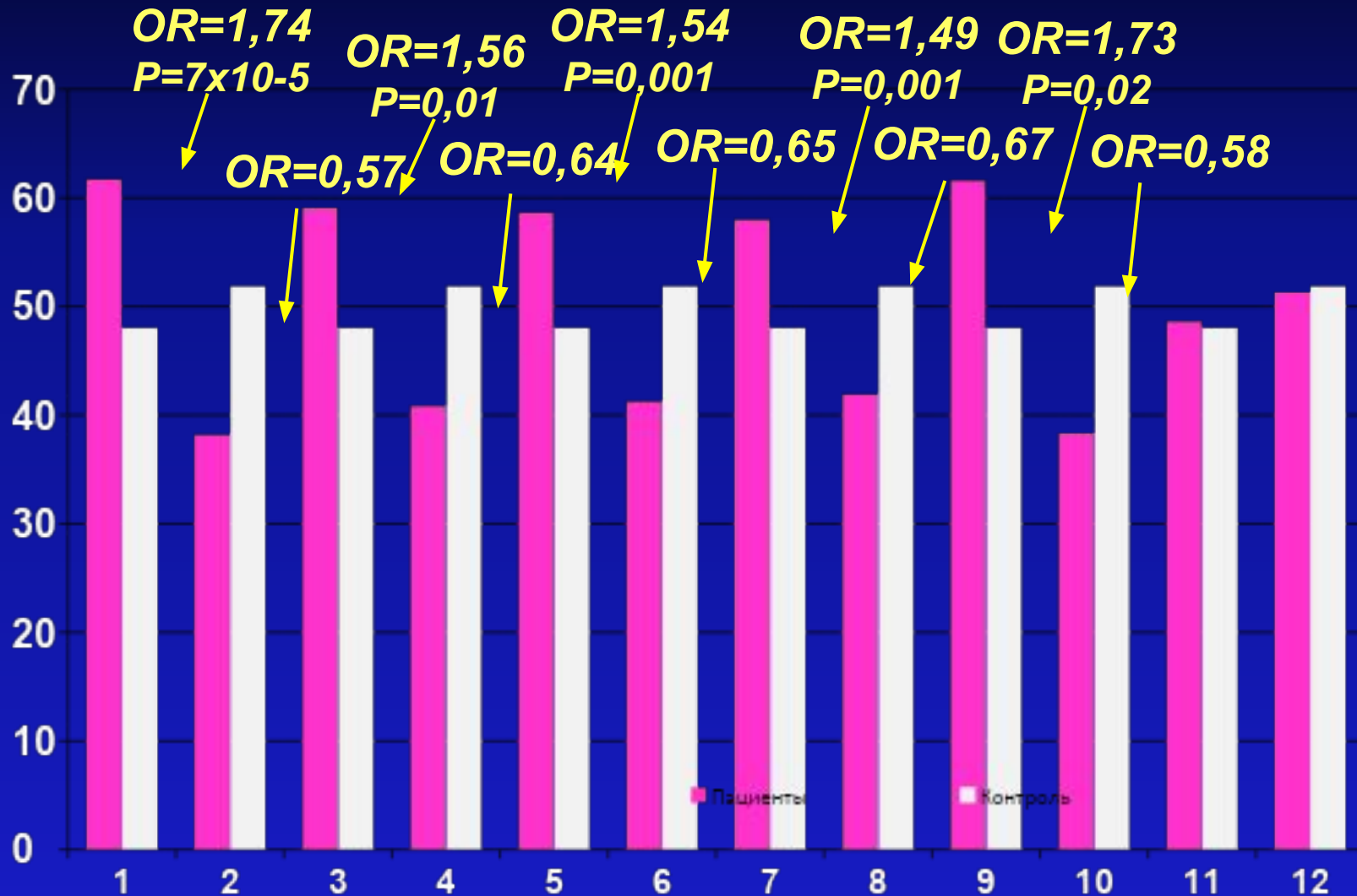
# Ассоциация полиморфного варианта гена **ORMDL3 (rs9303280 C>T)** с риском развития аллергических заболеваний



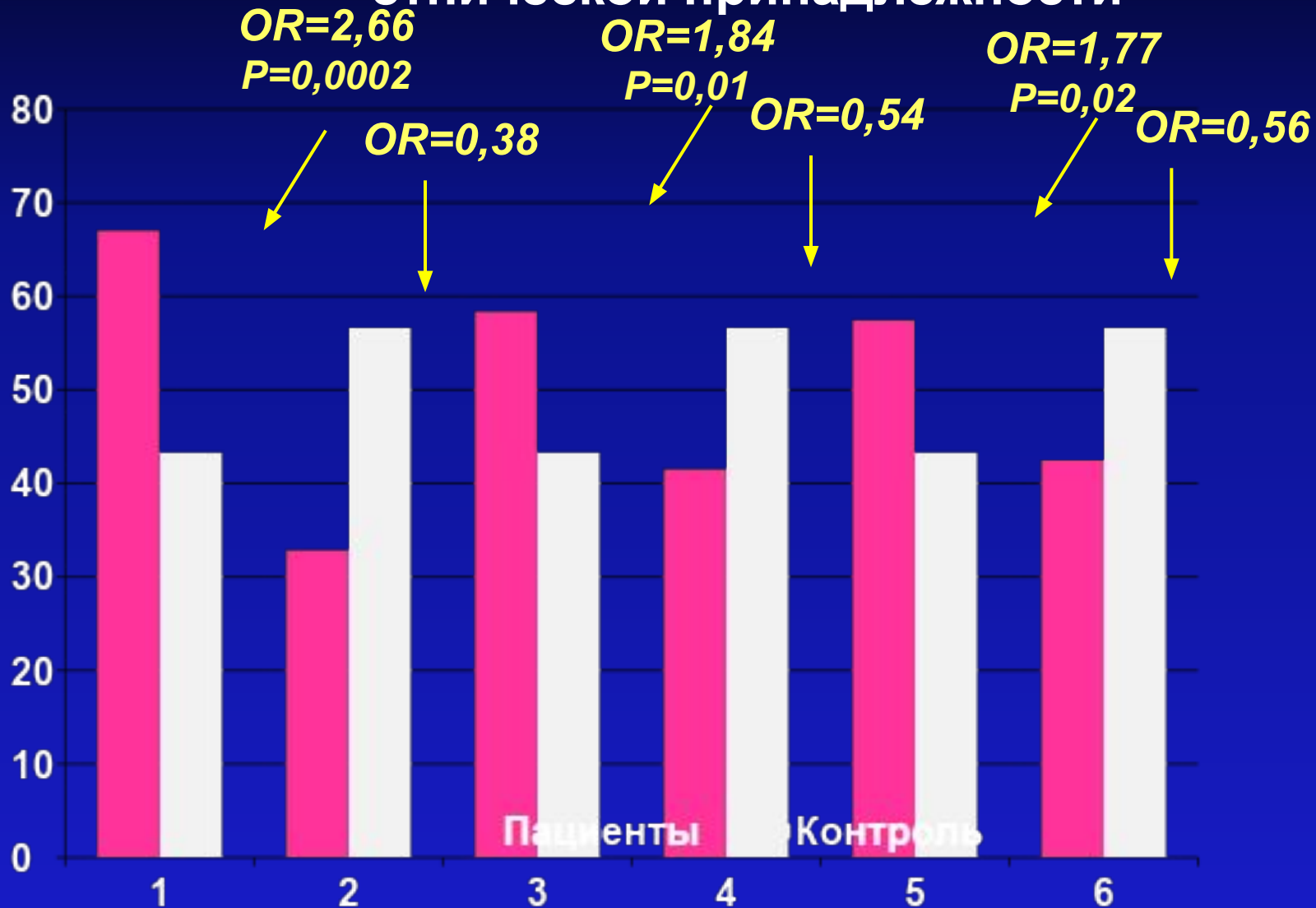
Ассоциация полиморфного варианта гена  
**ORMDL3 (rs9303280 C>T)** с риском развития  
аллергических заболеваний у индивидов русской  
этнической принадлежности



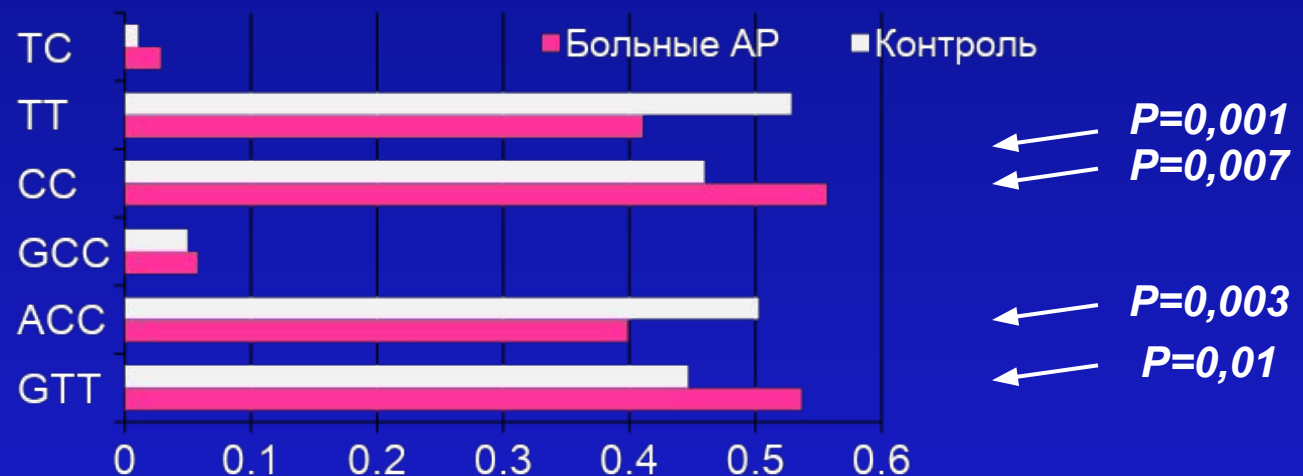
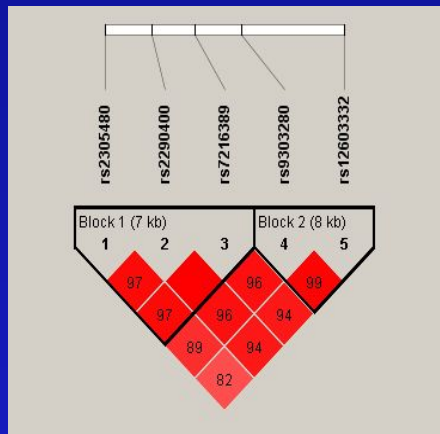
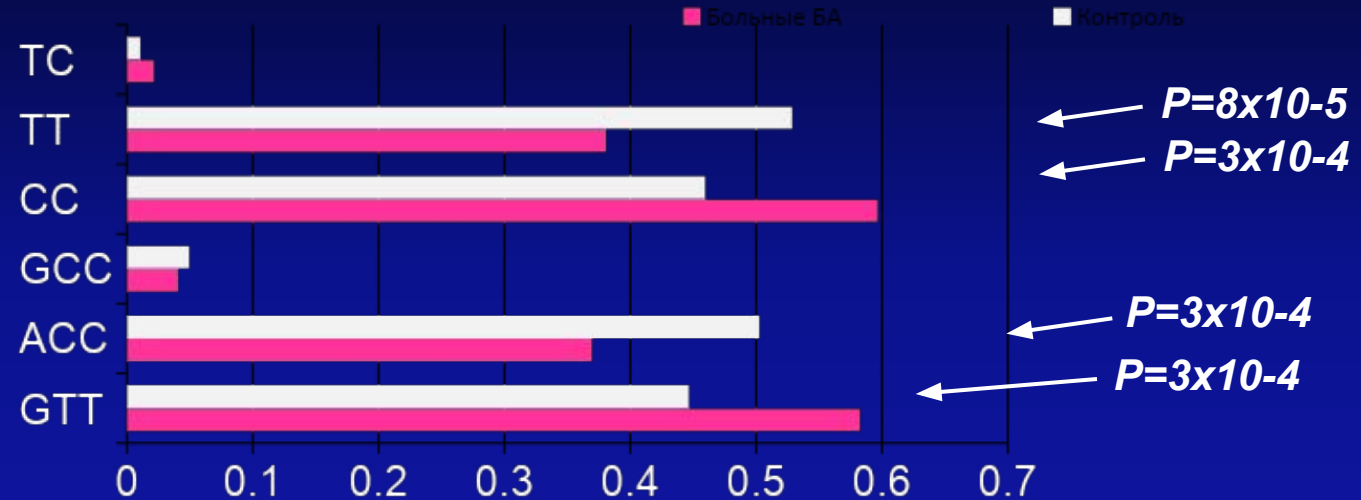
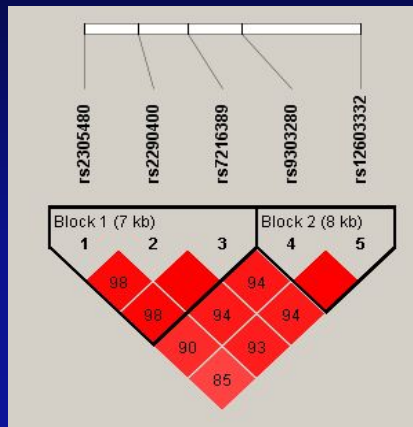
# Ассоциация полиморфного варианта гена *ORMDL3* (*rs12603332* C>T) с риском развития аллергических заболеваний



# Ассоциация полиморфного варианта гена **ORMDL3 (rs12603332 C>T)** с риском развития аллергических заболеваний у индивидов русской этнической принадлежности



# Анализ гаплотипов 5 полиморфных локусов rs2305480 - rs2290400 - rs7216389 - rs9303280 - rs12603332 (17q21) у больных аллергическими заболеваниями и контрольной группы

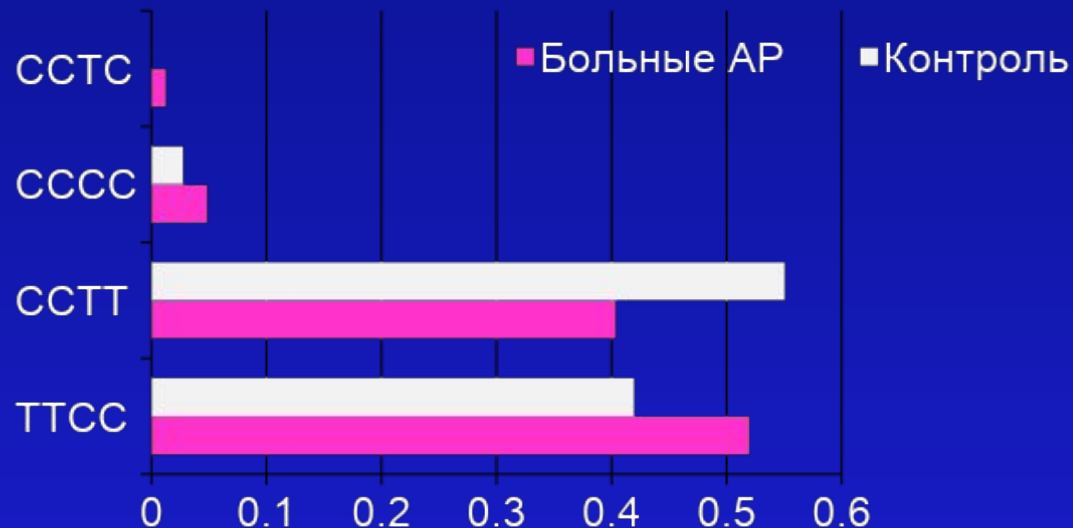
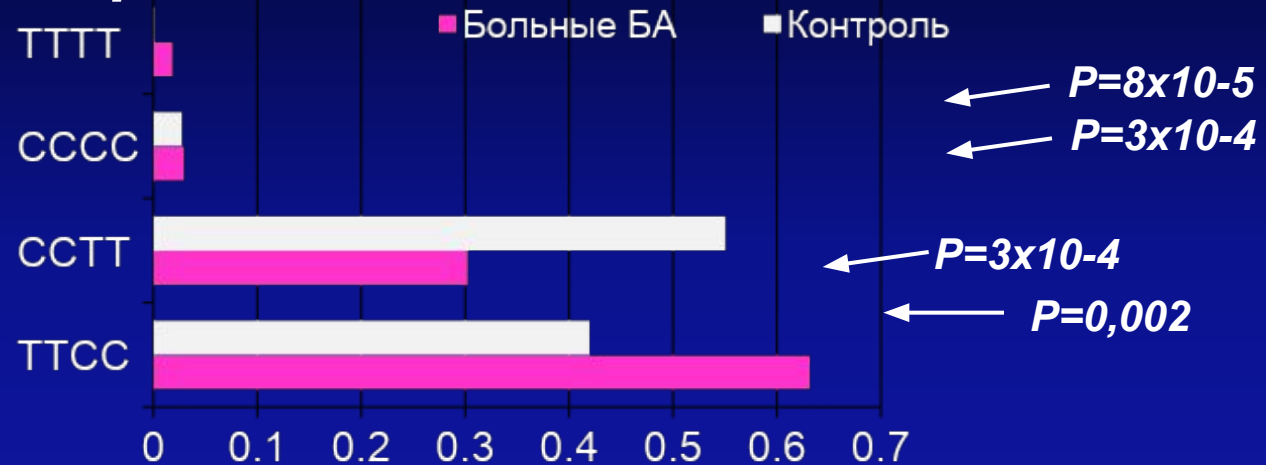
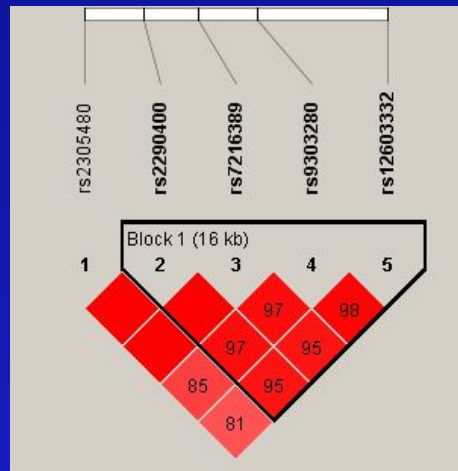
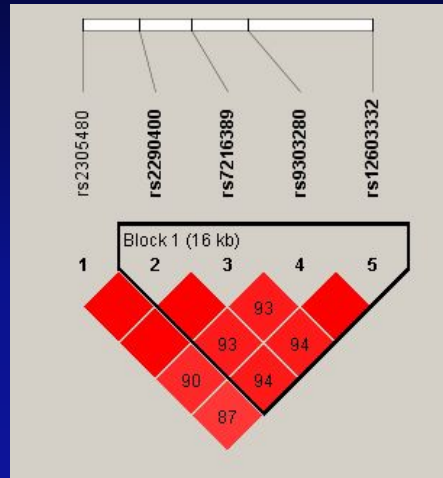


# Анализ гаплотипов в 5 полиморфных локусов

rs2305480 - rs2290400 - rs7216389 - rs9303280 - rs12603332

(17q21) у больных аллергическими заболеваниями  
и контрольной группы русской этнической

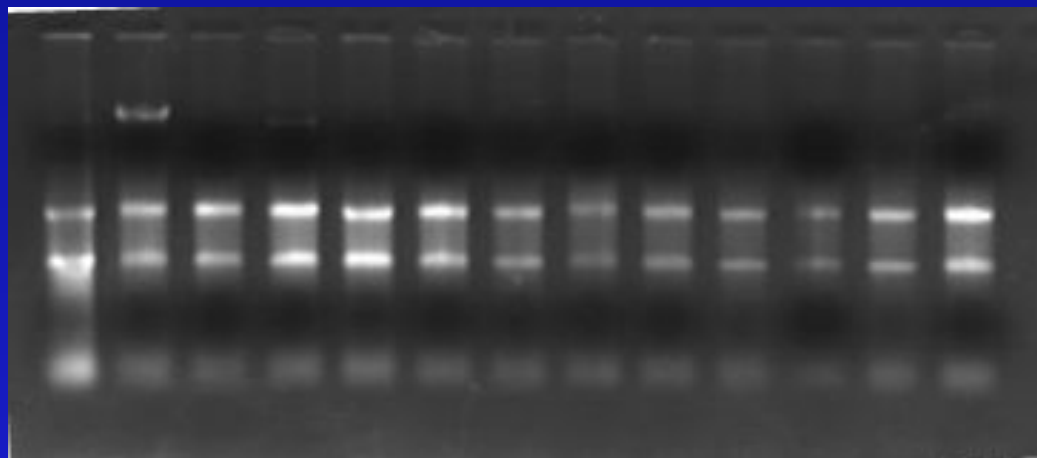
принадлежности



# Анализ экспрессии генов *ORMDL3* и *GSDML* в лейкоцитах периферической крови у больных БА и индивидов контрольной группы

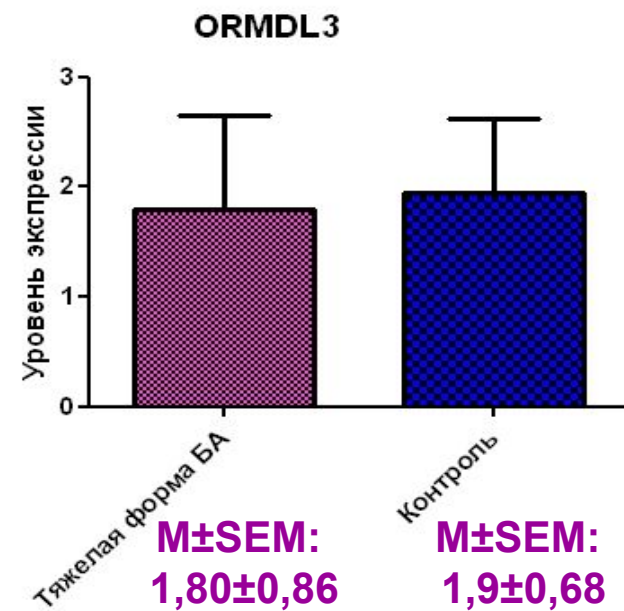
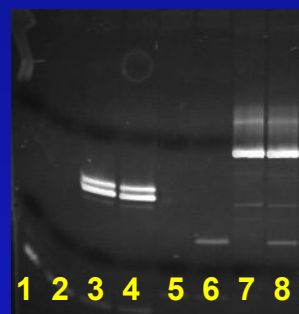
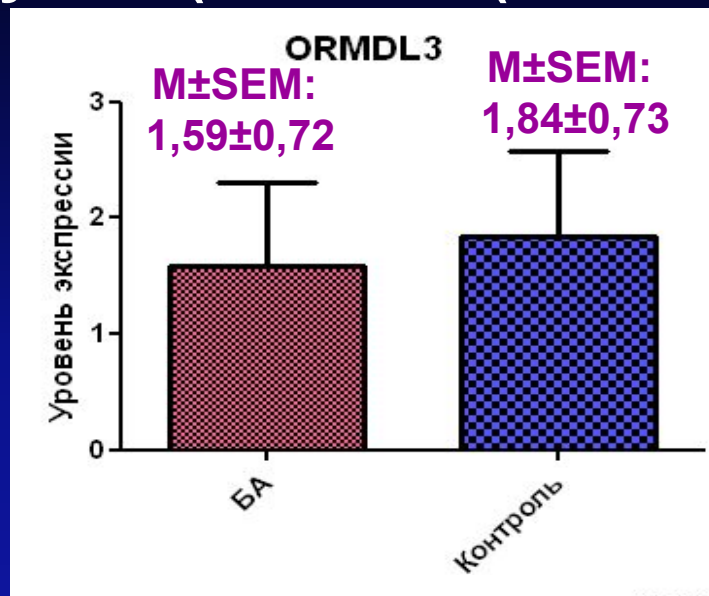
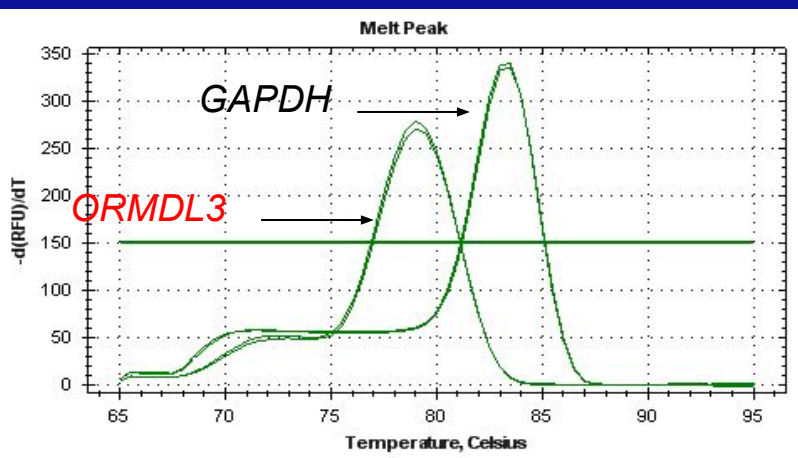
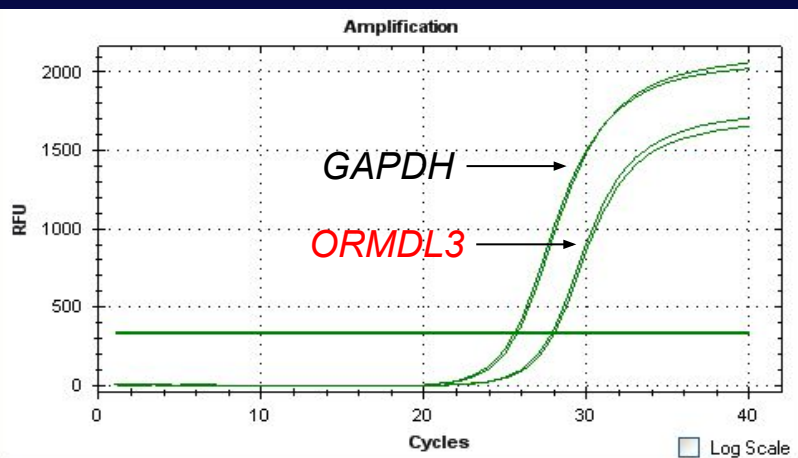
- 13 больных бронхиальной астмой с сопутствующим аллергическим ринитом:  
(2 - легкая форма БА, 7 - средне-тяжелая форма БА, 2 –тяжелая форма БА)
- 13 здоровых индивидов без признаков атопии

**Электрофореграмма, демонстрирующая проверку качества выделенной тотальной РНК (Дорожки 1-13 – образцы РНК, не обработанные ДНКазой)**



← 28 S  
← 18 S

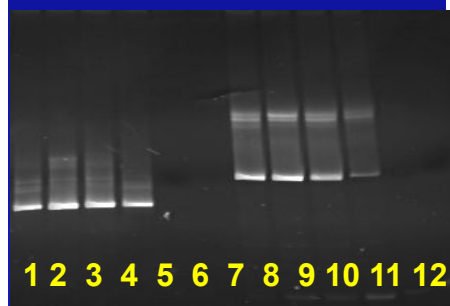
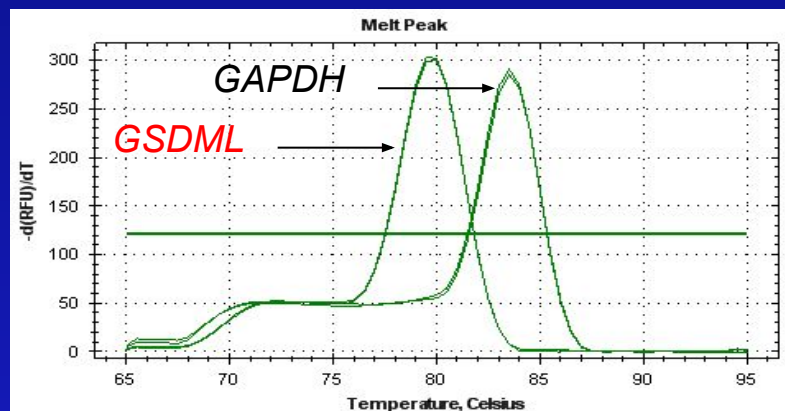
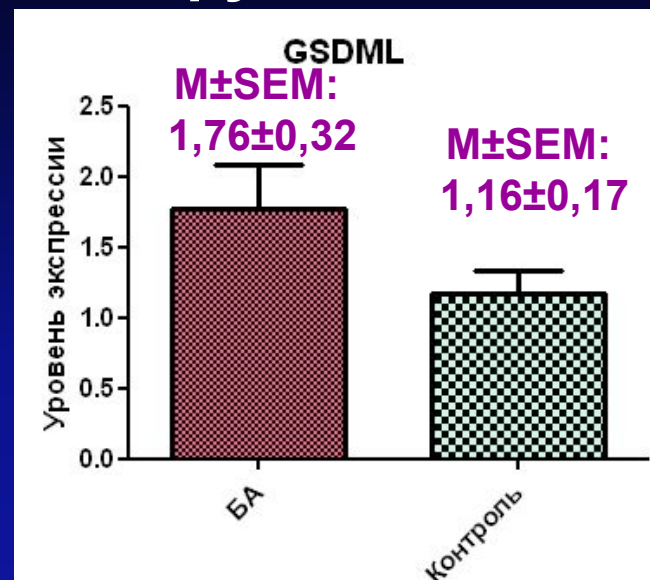
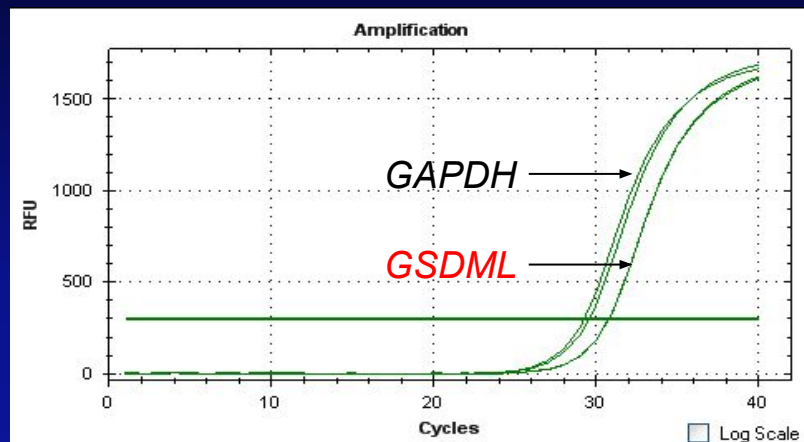
# Уровень экспрессии гена **ORMDL3** в лейкоцитах периферической крови больных БА и индивидов контрольной группы (метод $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ )



## Электрофореграмма ПЦР-РВ

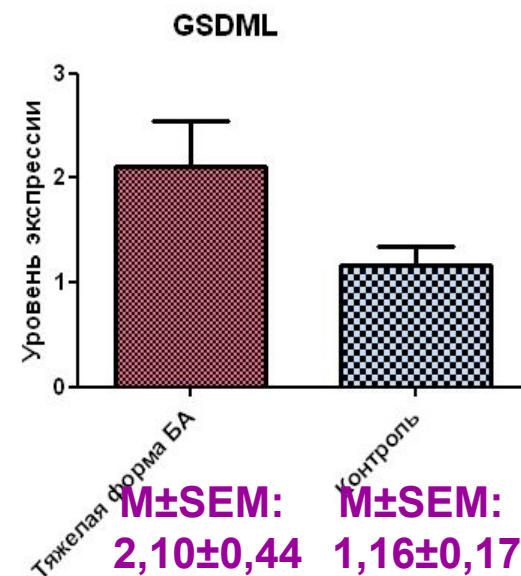
(1-RT(GAPDH), 2, – NTC(GAPDH), 3,4 – ген GAPDH, 5 – RT(ORMDL3), 6 – NTC(ORMDL3), 7,8 – ген ORMDL3,

# Уровень экспрессии гена **GSDML** в лейкоцитах периферической крови больных БА и индивидов контрольной группы

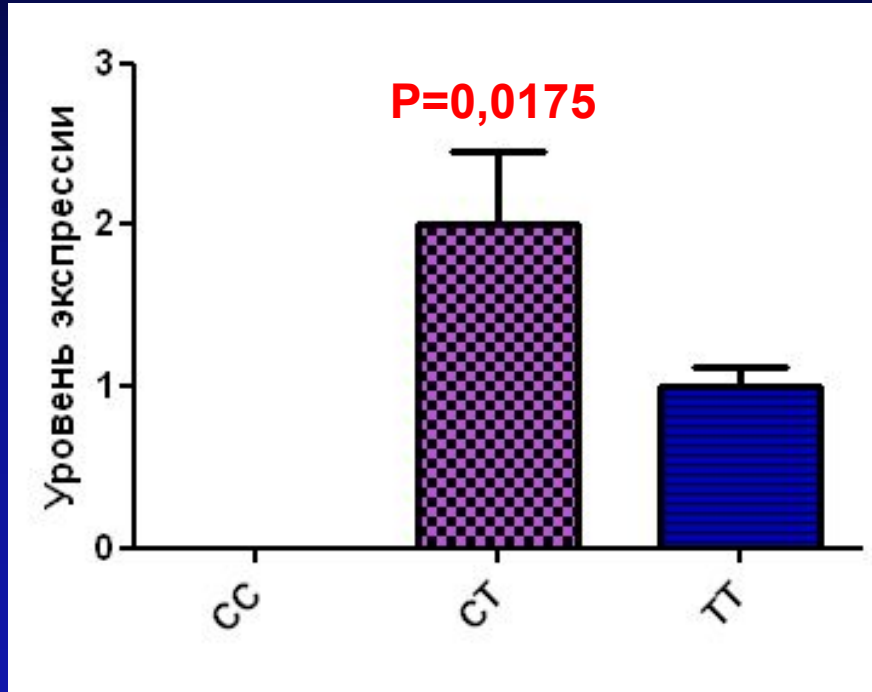


## Электрофореграмма ПЦР-РВ

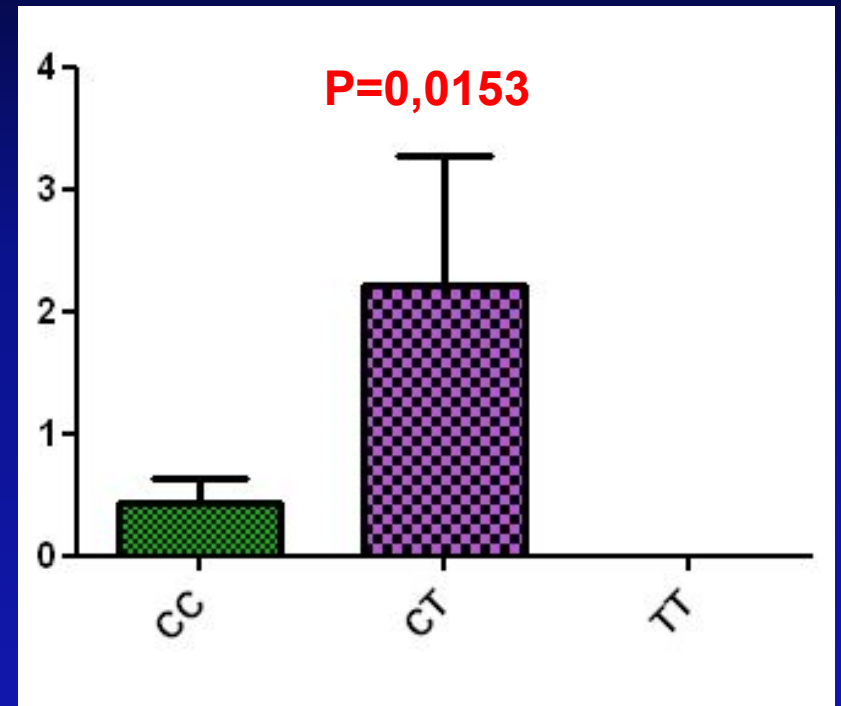
1-4 – ген *GSDML*, 5 – RT(*GSDML*), 6 – NTC(*GSDML*)  
 7-10 – ген *GAPDH*, 11 – RT(*GAPDH*), 12 – NTC(*GAPDH*)



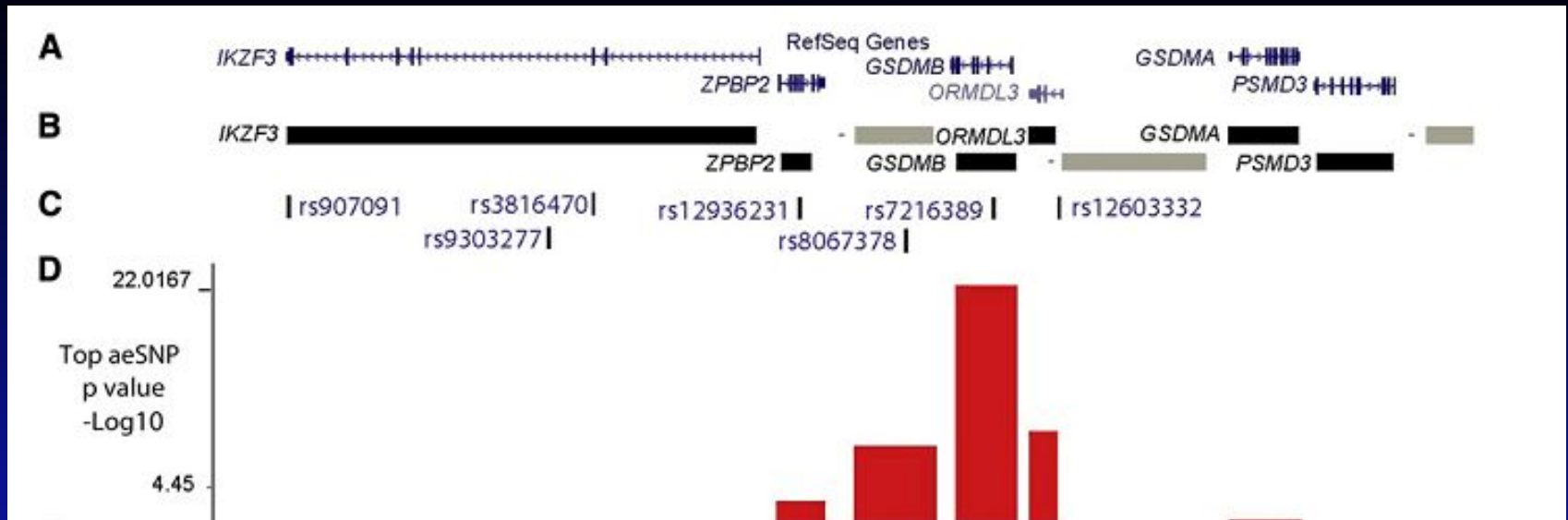
## Уровень экспрессии генов **GSDML** (1) и **ORMDL3** (2) в лейкоцитах периферической крови больных БА



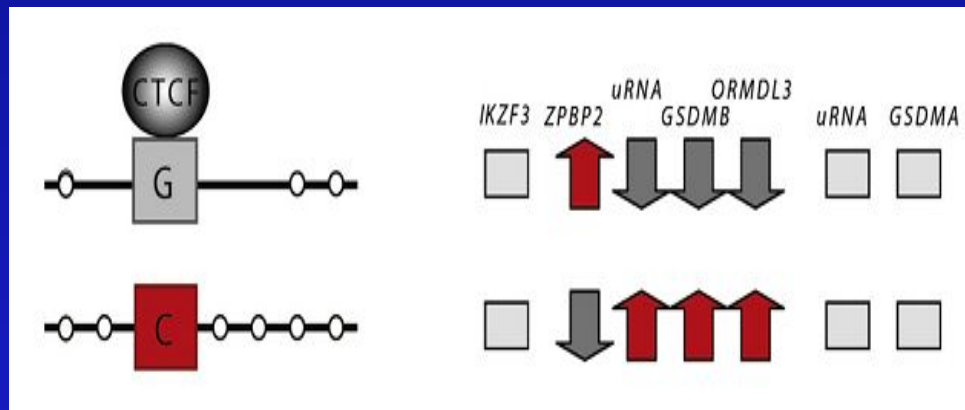
(1) больные БА с различными генотипами полиморфного варианта - **rs7216389 C/T** гена **GSDML**



(2) больные БА с различными генотипами полиморфного варианта **rs 9303280 C/T** гена **ORMDL3**



Полногеномные данные аллельной экспрессии в клеточных линиях лимфоцитов, полученных от индивидов европеоидного происхождения (CEU, HarMap)



ОНП rs12936231, изменяющий последовательность предполагаемого сайта связывания ДНК с белком-инсулятором CTCF. (D.J. Verlaan et al., The American Journal of Human Genetics, 2009)

# Заключение

- Установлена ассоциация полиморфных вариантов генов *GR (rs41423247 (+646C/G))* и *CRHR1 (rs1876828 C>T)* с тяжелой формой БА у татар.
- Выявлена ассоциация полиморфного варианта гена *CRHR1 (rs1876828 C>T)* со сниженными показателями функции внешнего дыхания (ОФВ1, ЖЕЛ) у больных БА.
- Установлена ассоциация полиморфного варианта гена *CRHR1 (rs1876828 C>T)* с БА у русских.
- Маркерами повышенного риска развития АЗ, БА и АР являются аллели *ORMDL3\*rs9303280C* и *ORMDL3\*rs12603332C*.
- У индивидов русской этнической принадлежности определены маркеры повышенного риска развития АЗ, БА и АР – аллели *ORMDL3\*rs9303280C* и *ORMDL3\*rs12603332C*.

- Гаплотипы GTT и CC генов *ORMDL3/GSDML* являются маркерами повышенного риска развития БА и АР. Гаплотип TTCC генов *ORMDL3/GSDML* является маркером повышенного риска БА у русских.
- Обнаружено повышение уровня экспрессии гена *GSDML* в лейкоцитах периферической крови больных бронхиальной астмой.

## Список публикаций

- Карунас А.С., Гималова Г.Ф., Федорова Ю.Ю., Юнусбаева М.М., Нургалиева А.Х., Левашева С.В., Гуменная Э.Р., Рамазанова Н.Н., Гурьева Л.Л., Бикташева А.Р., Галимова Е.С., Мухтарова Л.А., Хисматуллина З.Р., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Анализ ассоциации мутаций в гене профилаггрина с развитием аллергических заболеваний в Республике Башкортостан // Медицинская генетика. – 2012. – Т.11. – №1. – С.40-46.
- Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Рамазанова Н.Н., Галимова Е.С., Гималова Г.Ф., Гурьева Л.Л., Левашева С.В., Бикташева А.Р., Мухтарова Л.А., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Исследование роли полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии бронхиальной астмы в Республике Башкортостан // Пульмонология. Подано в печать.
- Заявка на патент. Способ прогнозирования риска развития бронхиальной астмы. Хуснутдинова Э.К., Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Нургалиева А.Х., Юнусбаев Б.Б. Регистр № 2012129763.

- Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Гуменная Э.Р., Левашова С.В., Бикташева А.Р., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Ассоциация полиморфных вариантов генов цитокинов с развитием атопического дерматита в Республике Башкортостан //Пренатальная диагностика и генетический паспорт - основа профилактической медицины в век нанотехнологий: Материалы V Всероссийской конференции с международным участием / Под ред. чл.-корр. РАМН. В.С.Баранова.- Новосибирск: "НСК Регион", 16-18 мая 2012. - С.30.
- Карунас А.С., Юнусбаев Б.Б., Федорова Ю.Ю., Рамазанова Н.Н., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Полногеномный анализ ассоциации бронхиальной астмы в Республике Башкортостан //Пренатальная диагностика и генетический паспорт - основа профилактической медицины в век нанотехнологий: Материалы V Всероссийской конференции с международным участием /Под ред. чл.-корр. РАМН. В.С.Баранова.- Новосибирск: "НСК Регион", 16-18 мая 2012. - С.48.
- Gimalova G.F., Prans E., Karunas A.S., Fedorova Y.Y., Gumennaya E.R., Levashova S.V., Biktasheva A.R., Etkina E.I., Koks S., Khusnutdinova E.K. Toll-like receptor genes variants and atopic dermatitis in Volga-Ural region of Russia // European Human Genetics Conference. Nurnberg Germany. 23-26 июня 2012.
- Fedorova Y., Karunas A., Yunusbaev B., Ramazanov N., Galimova E., Etkina E., Zagidullin S., Khusnutdinova E. Association of GRIA1 gene polymorphisms with asthma in Bashkirs from Russia // European Human Genetics Conference. Nurnberg Germany. 23-26 июня 2012.

- Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Гуменная Э.Р., Левашова С. В., Бикташева А.Р., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Полиморфные варианты генов Толл-подобных рецепторов TLR1 и TLR10 в развитии атопического дерматита в Республике Башкортостан // Актуальные проблемы генетики человека, животных, растений и микроорганизмов: материалы Всероссийской школы-конференции молодых ученых. 24-26 сентября 2012, г.Уфа / глав.ред. Э.К.Хуснутдинова. - Уфа: РИЦ БашГУ, 2012. - С. 43-46.
- Федорова Ю.Ю., Карунас А.С., Рамазанова Н.Н., Гурьева Л.Л., Мухтарова Л.А., Мурзина Р.Р., Гатиятуллин Р.Ф., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Анализ ассоциации полиморфных вариантов генов b2-адренорецептора и глюкокортикоидного рецептора с развитием бронхиальной астмы в Республике Башкортостан // Актуальные проблемы генетики человека, животных, растений и микроорганизмов: материалы Всероссийской школы-конференции молодых ученых. 24-26 сентября 2012, г.Уфа / глав.ред. Э.К.Хуснутдинова. - Уфа: РИЦ БашГУ, 2012. - С.168-173.

- РФФИ № 11-04-97063-р\_поволжье  
«Молекулярно-генетическое исследование  
аллергического ринита» 2011-2013 (Р)
- Государственный контракт на выполнение  
научно-исследовательских и опытно-  
конструкторских работ по программе «У.М.Н.  
И.К.» №У10-02 от 23.04.2010г. «Разработка  
способа прогнозирования риска развития  
бронхиальной астмы» (Р)
- РФФИ моб\_з № 12-04-09280 2012г. (Р)
- Fellowship ESHG 2012 (стендовый доклад).

Спасибо за внимание!