

© ЧУЧАЛИН А.Г., 1999

УДК 616.248-056.7

А.Г. Чучалин

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва

Генетические механизмы бронхиальной астмы в 90-е годы уходящего столетия стали областью активных международных исследований, хотя история этого вопроса насчитывает уже несколько столетий. В 1650 году *Sennertus* описал бронхиальную астму в трех следующих одна за другой генерациях; *Salter* (1864) описал семью, в которой сразу несколько братьев и сестер болели бронхиальной астмой, в то время как ни один из родителей не имел симптомов данного заболевания. Однако следует признать, что это были скорее единичные, во многом случайные, а не систематические клинические наблюдения выдающихся врачей прошедших столетий. *Bray* (1936) — первый, кто провел анализ разрозненных публикаций и смог показать высокий риск возникновения бронхиальной астмы, когда у кого-либо из членов семьи отмечалось аллергическое заболевание. На детской популяции было показано: если один из родителей болен бронхиальной астмой, то риск заболеть у ребенка в три раза выше по сравнению со здоровыми семьями и в шесть раз выше, если оба родителя больны астмой. В последующий период были выполнены исследования на близнецах и продемонстрирована высокая степень генетической предрасположенности к возникновению бронхиальной астмы; у монозиготных близнецов она превышала 60% и несколько ниже была у дизигот.

Несмотря на определенные успехи популяционной генетики, сохраняется большое количество нерешенных вопросов, из которых принципиальное значение имеют: природа генетической предрасположенности, локализация в геноме человека и признаки, определяющие фенотип бронхиальной астмы. В геноме человека входят гены, индуцирующие болезнь, ее фенотип и особенно признаки (*trait*) тяжело протекающих форм заболевания; гены, контролирующие ответ на проводимое лечение и вступающие в интерреакцию при воздействии на организм человека определенных факторов внешней среды.

Геном человека состоит приблизительно из 3×10^4 пар оснований и около 60 000—80 000 генов. В 90-е годы были применены два различных метода для того, чтобы установить гены, вовлеченные в механизмы реализации бронхиальной астмы: метод сцепленных генов и генетических ассоциаций. Метод сцепленных

генов был применен для исследования связи между генетическими маркерами и характерными признаками болезни (*trait*). Полиморфные генетические маркеры в исследованиях сцепленных генов обычно не используют для установления генов болезни, но они позволяют идентифицировать сайты, где последовательности ДНК высоко вариабельны между индивидуумами. Эти методы были дополнены исследованием техники разделения аллель, что в своей совокупности обеспечило высокую вероятность полученных результатов. Достижение максимально вероятного результата потребовало создания конструкции передающей модели, посредством которой можно объяснить генетические механизмы болезни в генеалогии; для достижения этой цели потребовалось применить сегрегационный анализ (*Meijer B. et al.*, 1998). Эта форма анализа сравнивает число заболевших индивидуумов с вероятным числом возможно болеющих, используя различные формы наследования (рецессивная и доминантная).

Таблица 1

Гены кандидаты, ответственные за развитие бронхиальной астмы

Ген кандидат	Хромосомная локализация
Интерлейкин 4	5q
β_2 -адренергический рецептор	5q
Лимфоцитспецифический глюкокортикоидный рецептор	5q
Туморнекротический фактор — β	6p
Высокоаффинные рецепторы иммуноглобулина класса E, субъединица — β	11q
Рецептор 1 туморнекротического фактора	12q
Гамма-интерферон	12q
Химаза тучных клеток	14q
Рецепторы T-клеток, альфа/сигма-комплекс	14q

Примечание. q — длинное плечо хромосомы, p — короткое плечо хромосомы

Статистический анализ по установлению статистически значимой связи проводился по системе LOD (*base 10 logarithm of the odds ratio*). Традиционно, если шкала подсчета превышала величину 3, то в таком случае данные приводились как доказательные, и, напротив, при величине ниже 2 данные относились к не достоверным, что означает отсутствие связи между проявлениями болезни и локализацией конкретного гена. Последним этапом в аналитической работе является подсчет рекомбинантной фракции, которая отражает в системе LOD дистанцию связи между маркером и геном болезни. В методе разделительных аллель устанавливалась передача маркеров в семьях с целью установления родственников, имеющих генетические аллели болезни; этот метод особенно эффективен при работе с семьями, в которых имеются сибсы с заболеванием бронхиальной астмой. Наконец, метод ассоциативных связей был применен для выявления специфических аллель, определяющих фенотип болезни. В этом исследовании участвовали как пораженные, так и не пораженные индивидуумы, что позволило установить частоту аллелей, определяющих фенотип бронхиальной астмы. В конце 90-х годов удалось провести анализ кандидатов генов, ответственных за развитие бронхиальной астмы. Ниже в табл. 1 приводятся сводные данные по кандидатам генам.

Наибольшие трудности, с которыми встретились при проведении генетических исследований, были связаны с отсутствием четкого определения бронхиальной астмы. В последнее время в этом направлении был достигнут определенный прогресс. ВОЗ и Национальный институт здоровья США инициировали международную работу экспертов по глобальной проблеме бронхиальной астмы. В официальном докладе ВОЗ и Национального института здоровья США (1995 г.) дается определение болезни с позиции хронического воспалительного процесса дыхательных путей; подчеркивается хорошо очерченный фенотип бронхиальной астмы. В истории изучения генетических аспектов болезни впервые появилась логическая схема для проведения последующих, более углубленных исследований этих вопросов. В настоящее время выделяют два наиболее тесно связанных с бронхиальной астмой фенотипа: гиперреактивность дыхательных путей и атопия, которые и были использованы для проведения серии генетических исследований 90-х годов. Однако вскоре обозначились новые проблемы в изучении генетической предрасположенности к возникновению бронхиальной астмы. Очень быстро было установлено, что бронхиальная астма не относится к числу моногенных заболеваний, таких как муковисцидоз, эссенциальная эмфизема легких и ряд других заболеваний, т.е. схему ген-болезнь нельзя распространить на мультигенетическую природу заболевания. В процессе исследований 90-х годов стали появляться вопросы, которые требуют разработки новых подходов для того, чтобы их разрешить. Одной из таких проблем является обследование индивидуумов, у которых установлены генетические предрасполагающие к возникновению болезни аллели, но клинических проявлений болезни

нет (незавершенное проникновение); с другой стороны, манифестация болезни при отсутствии генетических маркеров (фенокопия). Эта проблема типична для бронхиальной астмы, так как на возникновение болезни и ее обострений оказывают влияние многие факторы: возраст, пол, окружающая среда, включая промышленные и бытовые поллютанты, аэроаллергены, вирусная, бактериальная и грибковая инфекция дыхательных путей, табакокурение и, возможно, диета.

Генетическая гетерогенность, которая возникает при мутации генов и сохраняющемся фенотипе болезни, является другой относительно новой проблемой. Актуальность исследований в этой области особенно остро проявляется в оценке эффективности проводимой антиастматической терапии. Генетическая гетерогенность значительно затрудняет картирование генов, ответственных за развитие болезни, так как генетические маркеры могут в одних семьях определять характерные признаки (*trait*), в других — они могут отсутствовать. Эти данные объясняют сложную мультигенетическую природу бронхиальной астмы, когда при проведении исследований на изолированной популяции результаты не могут быть экстраполированы на общую популяцию.

Экспрессия некоторых характерных признаков осуществляется посредством полигенетической наследственной предрасположенности; с этими генетическими механизмами связывают формирование атопии и повышенной продукции иммуноглобулина класса E, а также сложных реакций организма человека при его взаимодействии с факторами окружающей среды.

Атопия характеризуется повышением уровня общего иммуноглобулина класса E, а также специфических антител IgE к аэроаллергенам, выявляемых реакциями *in vitro* или же при постановке кожных тестов. При многих исследованиях было показано, что существует генетическая предрасположенность к развитию атопии. *Hopp et al.* (1984) в исследованиях на близнецах показали, что коэффициент корреляции в повышении уровня IgE достиг у монозиготных близнецов 0,82, в то время как у дизиготных близнецов он составил лишь 0,52. Большинство исследований, которые были проведены с использованием сегрегационного анализа, подтвердили наличие локуса, определяющего фенотипическую характеристику бронхиальной астмы, но была высказана гипотеза о различных генетических предрасполагающих механизмах. *Meyers et al.* (1991) привели доказательства в пользу рецессивной природы в синтезе высокого уровня общего IgE. *Dizier et al.* (1995) установили генетическую рецессивную предрасположенность к повышенной концентрации иммуноглобулина, синтез которого активируется после контакта с аллергенами. В голландском генетическом проекте также была представлена рецессивная модель наследования синтеза иммуноглобулина класса E; проведенный сегрегационный анализ в этом исследовании позволил предположить два локуса, ответственных за синтез иммуноглобулина. Доказательства кодоминантной генетической предрасположенности в продукции общего IgE были сообщены *Meyers et al.* по

результатам исследований в Пенсильвании (*Amish families*), на испанской и европейской популяциях в Аризоне. *Hasstedt et al.* (1983) смогли установить на популяции мормонов наследственную предрасположенность. *Blumenthal et al.* (1981) исследовали генеалогию трех больших семей и пришли к выводу о различной природе генетической предрасположенности в каждой из семей, что свидетельствует о генетической гетерогенности наследования.

Гиперреактивность дыхательных путей у больных бронхиальной астмой является облигатным признаком болезни и встречается в 100% случаев болезни. Механизмы, ответственные за формирование гиперреактивности дыхательных путей, связывают с индивидуальной повышенной чувствительностью и провоспалительным действием факторов внешней среды. В настоящее время общепринятой концепцией является воспалительная природа феномена гиперреактивности дыхательных путей. Естественно, стали проводить исследования, направленные на поиск генов, ответственных за формирование гиперреактивности дыхательных путей. В клинической практике феномен гиперреактивности дыхательных путей устанавливается проведением ингаляционного теста с гистамином или же с метахолином; учитывается кумулятивная доза бронхоконстриктора, которая привела бы к 20% снижению показателей форсированной жизненной емкости за одну секунду ($PD_{20}FEV_1$). *Hop et al.*, проведя исследования на близнецах, сообщили что феномен гиперреактивности находится под генетическим контролем — процент наследования превысил 66. Этими же авторами было показано, что среди родителей, дети которых были больны бронхиальной астмой, клинических проявлений болезни не отмечалось. Однако пробанды имели положительный тест на ингаляции метахолина и гистамина. Сегрегационный анализ указал, что хотя и выявляется семейная передача к бронхоконстрикторному эффекту метахолина, по крайней мере в одной генерации, этот генетический механизм нельзя связать с одним аутосомальным локусом. *Longo et al.* (1987), напротив, установили доминантный тип наследования феномена гиперреактивности к карбохолину; в последующих исследованиях доминантный тип наследования был также подтвержден по отношению к гистамину. Таким образом, установлен факт наследственной предрасположенности к гиперреактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой, однако генетическая регуляция этого феномена, интерреакция с факторами внешней среды остаются малоизученными вопросами.

Первое сообщение о связи атопии и хромосомной локализации сделала группа генетиков из Оксфорда (*Cookson et al.*, 1989). К группе больных с атопией, которая была подтверждена положительными кожными тестами (положительная реакция оценивалась, если гиперемия на 2 мм превышала контроль), повышением уровня общего IgE и обнаружением специфических IgE, был применен метод сцепленных генов. Атопия, лежащая в основе возникновения бронхиальной астмы, была маркирована на хромосоме 11q. В последующих

исследованиях этих авторов было показано, что передача атопии через ген, локализованный в позиции 11q, возможна лишь только по материнской линии. Природа этого явления не получила пояснения к настоящему времени. В исследовании группы *Sanford* (1993) было высказано предположение о том, что β -субъединицы высокоаффинных рецепторов IgE являются генами кандидатами на хромосоме 11q. Экспрессия этих рецепторов установлена в тучных клетках, базофилах, что имеет важное значение в реализации механизмов IgE-зависимой дегрануляции тучных клеток. *Shirakawa et al.* (1994) исследовали полиморфизм (*Leu 181*) гена рецептора при атопии и установили, что он наследуется по материнской линии. *Hill et al.* (1995) на популяции больных бронхиальной астмой в Австралии установили высокий риск возникновения бронхиальной астмы по материнской линии при полиморфизме гена высокоаффинного рецептора иммуноглобулина класса E (*Leu 181/Leu 183*). *Danies et al.* (1996) провели широкое исследование по геному человека и установили потенциальную связь в механизмах повышения концентрации синтеза IgE и его специфических высокоаффинных рецепторов, гены которых представлены на 16 паре хромосом. Однако, несмотря на данные о том, что ген высокоаффинного рецептора иммуноглобулина класса E вовлечен в процесс формирования атопии, в ряде исследований это не получило подтверждения. В голландском проекте с применением метода разделения аллелей было показано, что атопия связана с хромосомой 11q, в то время как ген рецептора иммуноглобулина E не маркировался. *Doull et al.* (1996) показали ассоциацию между полиморфизмом хромосомы 11q и развитием атопии, но локус находится на значительном расстоянии от гена высокоаффинного рецептора IgE с тем, чтобы объяснить ассоциативную связь между геном атопии и рецептором иммуноглобулина.

Другая область генома человека, которая привлекла пристальное внимание к исследованию, связана с коротким плечом пятой пары хромосом. Эта область генома человека включает некоторые гены, которые играют важную роль в развитии воспаления при атопии и бронхиальной астме: интерлейкины — 3, 4, 5, 9 и 13, а также гранулоцит — макрофагстимулирующий фактор и фактор роста № 1 фибробластов. Связь этих пяти маркеров с хромосомой 5q и высокой продукцией IgE была представлена в исследовании *Amish families*, однако ни один из пяти маркеров не был связан с синтезом специфических IgE. *Meyers et al.* получили схожие результаты, участвуя в голландском проекте. Анализ полученных данных позволил при статистической обработке по системе LOD прийти к выводу о том, что рецессивный механизм синтеза IgE связан с амплификацией 5q. *Xu et al.* (1995) провели дальнейший анализ по установлению генетического контроля над уровнем IgE и показали роль двух локусов, что также обеспечивает новой информацией по связи маркеров генов хромосомы 5q. *Doull et al.* показали полиморфизм в интерреакции генов, участвующих в общем синтезе IgE. Авторы показали роль

гена интерлейкина 9 в регуляции общего уровня IgE. Недавно были опубликованы данные (Mao et al., 1996), указывающие на связь атопии с полиморфизмом в зоне хромосомной пары 14q. В этой зоне также находятся гены целлюлярных протеаз. Barnes et al. (1996) провели исследование на афро-карибской популяции, среди которых регистрируется один из самых высоких в мире уровней аллергических заболеваний, включая и бронхиальную астму. Авторами было установлено, что маркер повышенного синтеза иммуноглобулина класса E приходится на длинное плечо 12-й пары хромосом. Регуляция синтеза общего и специфического IgE с генетических позиций имеет разные механизмы при формировании атопии и бронхиальной астмы. Уровень специфических IgE может регулироваться системой HLA или T-cell receptor (TCR) molecules; протеин может играть важную роль в распознавании антигенов. Генетические исследования, посвященные установлению роли HLA системы, определили ее патогенетическую роль в синтезе специфических IgE; ведущая роль в этом процессе отводится HLA-DR5. Однако в исследованиях Li et al. (1995) эту связь установить не удалось.

Moffat et al. (1994) показали связь синтеза иммуноглобулина класса E и генов TCR α - и β -комплексов, которые находятся соответственно в 14 и 7-й паре хромосом. Следует подчеркнуть, вместе с тем, противоречивый характер этих данных.

Феномен гиперреактивности дыхательных путей больных бронхиальной астмой является областью специальных генетических исследований, направленных на установление локуса в геноме человека. Эти данные суммированы в табл.2

Первые исследования, которые были посвящены поиску локуса гена гиперреактивности дыхательных путей, предположительно определяли его в 6 и 11-й паре хромосом. Postma et al. (1995) установили связь феномена гиперреактивности дыхательных путей с 5-й хромосомой в кластере, в который входит ген интерлейкина 4, оказывающий большое влияние на синтез

IgE. Так проявилась интерреакция между генами интерлейкина 4, общим уровнем иммуноглобулина класса E и гиперреактивностью дыхательных путей. Daniels et al. (1996) провел большое исследование в Австралии, которое охватило 172 sibсов из 80 семей с подтвержденным диагнозом атопии. Авторы использовали в своей работе 269 маркеров, которые были распространены на все хромосомы. Регионы 4 и 7-й хромосом проявили связь с гиперреактивностью дыхательных путей, в то время как установить связь с 5-й хромосомой и геном высокоаффинного рецептора иммуноглобулина E не удалось.

Большое внимание было уделено исследованию полиморфизма гена гиперреактивности. Гомозиготные больные бронхиальной астмой с полиморфизмом (Glu27) гена β_2 -рецептора оказались в 4 раза более чувствительными к бронхоконстрикторному действию метахолина, что особенно проявилось при сравнении с гомозиготами, у которых был полиморфизм гена (Gln27), маркированный как "дикий" тип. Ohe et al. (1995) в своих исследованиях не удалось установить связи между функциональной активностью β_2 -рецепторов и феноменом гиперреактивности дыхательных путей. В английском проекте была охвачена 131 семья из общей популяции как с признаками астмы, так и без них; удалось установить, что гиперреактивность дыхательных путей связана со специфической аллелью на 11-й хромосоме, локус которой находится на значительном расстоянии от гена высокоаффинного рецептора IgE.

К фенотипическим признакам бронхиальной астмы относят обратимость обструкции дыхательных путей на прием бронхорасширяющих препаратов. В этом феномене центральную роль отводят функциональному состоянию бета-рецепторов. Одним из наиболее перспективных генетических проектов по бронхиальной астме является исследование связи генов атопии, гиперреактивности дыхательных путей и β -рецепторов. Reihnsaus et al. (1993) уловили девять мутаций гена β_2 -рецептора. Мутация в 16-й позиции (Gly by

Таблица 2

Исследование сцепленных генов бронхиальной гиперреактивности

Год	Автор	Бронхоконстриктор	Бронхиальная гиперреактивность	Результат
1992	Lympany et al.	Метахолин	PD ₂₀ FEV ₁ < 8 мкмоль	Не установлена связь с маркером хромосомы 11q
1992	Amelung et al.	Гистамин	PD ₂₀ FEV ₁ < 32 мг/мл	Исключена связь с маркером хромосом 6p и 11q
1995	Herwerden et al.	Метахолин	PD ₂₀ FEV ₁ < 2 мг	Установлена связь с рецептором IgE в области 11q
1996	Shirakawa et al.	Метахолин	Кривая поток-объем	Установлена связь с маркерами 4 и 7-й пары хромосом

Примечание. PD₂₀FEV₁ — провокационная концентрация гистамина или метахолина, вызвавшая падение форсированной жизненной емкости за одну секунду на 20%.

Arg) ассоциирует с тяжелым течением бронхиальной астмы. *Ohe et al.* исследовали полиморфизм гена β_2 -рецептора и установили, что при полиморфизме гена чаще возникает бронхиальная астма с низким ответом на ингаляции салбутамола.

В последние пять лет в лечении больных бронхиальной астмой широкое применение получили лекарственные препараты, модулирующие обмен лейкотриенов. Первыми из этой многочисленной теперь группы препаратов стали применять ингибиторы 5-липооксигеназы (5-ЛО). Вскоре было отмечено, что не все больные одинаково успешно отвечают на терапию ингибитором 5-ЛО. Это явление объяснимо, так как астма известна как болезнь с гетерогенными механизмами патогенеза, в реализации которого принимают участие различные по природе воспалительные биологические субстанции. В этой связи особый интерес представляет исследование мутации гена фермента 5-ЛО (*Israel, 1999; Drazen et al., 1999*). Авторы установили — местом мутации является промотор; она состоит в изменении *Spl* и *Erg* — 1 (*early growth response* — 1). Дикий тип состоит из пяти последовательностей, в то время как при мутациях нарушается транскрипция *Spl* и *Erg* — 1. Больные бронхиальной астмой дифференцированно отвечают на терапию ингибитором 5-ЛО и ее эффект мало зависит от исходного уровня 5-ЛО, но он в значительной степени определяется мутацией гена 5-ЛО.

Полиморфизм гена гистаминовой метилтрансферазы играет важную роль в реализации механизмов аллергического воспалительного процесса при бронхиальной астме.

Исследования последних двух лет значительно расширили список генов кандидатов, вовлеченных в механизмы бронхиальной астмы. Так, установлены новые локации в хромосомах: 1, 2p, 4q, 5p, 7p, 9, 10p, 13q, 17q, 19q, 20p и 21q (*Meyers, 1999*).

Таким образом, бронхиальная астма относится к числу сложных мультигенетических заболеваний, что исключает моногенетическую терапию, как это удается при муковисцидозе и эссенциальной эмфиземе легких.

Внимание привлекает возможность влияния на гены цитокинов или другие гены, которые определяют тяжесть течения бронхиальной астмы. В экспериментальных моделях на животных с этой целью использованы противовоспалительные белки интерлейкинов 10, 12 и *IkB*. Перспективным кажется применение антисенсовых олигопептидов (*Barnes et al., 1998*). Авторы провели исследование на животных, у которых была вызвана модель бронхиальной астмы; ингаляция олигопептида блокировала аденозиновые рецепторы *A1*, что значительно снизило феномен гиперреактивности дыхательных путей.

Одним из наиболее перспективных исследований является разработка первичной профилактики больных бронхиальной астмой. Этот проект стал возможным благодаря достигнутым успехам по генетике бронхиальной астмы и можно предполагать, что он будет оказывать большое влияние на стратегию здравоохранения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Barnes P., Rodger I., Thompson N.* Asthma: Basic Mechanism and Clinical Management.— 1998.
2. *Bray G.W.* The hereditary factor in asthma and other allergies // *Brit. med. J.*— 1930.— P.384—387.
3. *Drazen J.M., Israel E., Obyrne P.M.* Treatment of asthma with drug modifying the leukotriene pathway // *New Engl. J. Med.*— 1999.— Vol.340.— P.197—206.
4. *Hasstedt S.J., Meyers D.A., Marsh D.G.* Inheritance of total serum IgE: genetic model fitting // *Amer. J. med. Genet.*— 1983.— Vol.14.— P.61—66.
5. *Hopp R.J., Bewetra A.K., Watt G.D. et al.* Genetic analysis of allergic disease in twins // *J. Allergy clin. Immunol.*— 1984.— Vol.73.— P.265—270.
6. *Meijer B., Bleecker E.R., Postma D.S.* // *Ibid.*— P.35—44.
7. *Meyers D.A., Beaty T.H., Freidhoff L.R., Marsh D.G.* Inheritance of total serum IgE in man // *Amer. J. hum. Genet.*— 1987.— Vol.41.— P.51—62.
8. *Meyers D.A.* Genetics of Asthma. Annual Meeting AAAAI. Lecture.— 1999.
9. *Xu J., Levitt R.C., Panhuysen C.I.M., Postma D.S.* Evidence for two unlinked loci regulating total serum IgE levels // *Amer. J. hum. Genet.*— 1995.— Vol.57.— P.425—430.

Поступила 20.09.99.