

## АНАЛИЗ АССОЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *ADRB2* С ОТВЕТОМ НА $\beta_2$ -АГОНИСТЫ У ПАЦИЕНТОВ С РЕДКИМ ТЕРАТИПОМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Д. С. Мдинарадзе, И. Б. Козлов, К. С. Павлова <sup>✉</sup>, И. А. Кофиади, О. М. Курбачева

Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Стандартная терапия бронхиальной астмы (БА) включает назначение  $\beta_2$ -агонистов. Изменение функциональной активности  $\beta_2$ -адренорецептора ассоциировано с полиморфизмом гена *ADRB2* и связано с низким терапевтическим ответом на  $\beta_2$ -агонисты. Выявление носителей клинически значимых вариантов гена поможет избежать неэффективного лечения и послужит основанием для назначения альтернативной терапии. Целью исследования было оценить клиническую значимость ассоциированных с терапевтическим ответом на  $\beta_2$ -агонисты полиморфных вариантов гена *ADRB2* (*Arg16Gly* и *Gln27Glu*) для группы пациентов с БА. Проведено клиническое и генетическое обследование небольшой группы взрослых некурящих пациентов ( $n = 21$ ) с БА средней степени тяжести (III–IV ступень по GINA), в том числе пациентов нового типа, для которых характерны плохой ответ на  $\beta_2$ -адренергические средства, но значимый ответ на М-холинергические средства. В первую группу были определены пациенты с подтвержденной эффективностью применения салбутамола, которые в то же время имели хороший ответ на ипратропия бромид. Во вторую группу вошли пациенты с низкой эффективностью терапии салбутамолом и положительным тестом с ипратропия бромидом. Анализ распределения полиморфных вариантов *Arg16Gly* и *Gln27Glu* показал отсутствие достоверной связи аллелей и генотипов с эффективностью применения  $\beta_2$ -агонистов (0,52 — для варианта rs1042713,  $p = 1,0$ ; и 1,0 — для варианта rs1042714,  $p = 0,74$  соответственно). При этом пациенты с отсутствием ответа на салбутамолом имели генотип либо *Arg16Gly*, либо *Gly16Gly*. Необходимы дальнейшие исследования с большим числом пациентов и расширением перечня тестируемых полиморфных вариантов.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, контроль астмы, полиморфизм генов,  $\beta_2$ -адренорецепторы, *ADRB2*, *Arg16*, *Gly16*, бронхолитические средства, короткодействующие  $\beta_2$ -агонисты, КДБА, короткодействующие антихолинергические препараты, КДХП, длительно действующие антихолинергические препараты.

**Финансирование:** исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-33-90076.

**Благодарности:** благодарим Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины РНИМУ им. Н. И. Пирогова (Москва, Россия) за возможность использования молекулярно-генетических технологий.

**Вклад авторов:** Д. С. Мдинарадзе, К. С. Павлова, О. М. Курбачева — подбор пациентов, проведение клинических лабораторных и инструментальных обследований, забор биологического материала; И. Б. Козлов, И. А. Кофиади — разработка новой тест-системы для анализа полиморфных вариантов гена *ADRB2* методом ПЦР, проведение генетического обследования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Института иммунологии Федерального медико-биологического агентства (протокол № 13 от 16 октября 2017 г.); все пациенты подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Ксения Сергеевна Павлова  
Каширское ш., д. 24, г. Москва, 115522; ksenimedical@gmail.com

**Статья получена:** 25.11.2020 **Статья принята к печати:** 09.12.2020 **Опубликована онлайн:** 26.12.2020

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2020.083

## ANALYSIS OF THE POLYMORPHIC VARIANTS OF *ADRB2* GENE ASSOCIATION WITH THE $\beta_2$ -AGONISTS RESPONSE IN PATIENTS WITH A RARE THERATYPE OF ASTHMA

Mdinaradze DS, Kozlov IB, Pavlova KS <sup>✉</sup>, Kofiadi IA, Kurbacheva OM

National Research Center Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia

Standard asthma therapy includes prescription of  $\beta_2$ -agonists. Changes in the functional activity of  $\beta_2$ -adrenergic receptor are associated with *ADRB2* gene polymorphism and related to the low therapeutic response to  $\beta_2$ -agonists. Identification of carriers of the clinically significant gene variants will help to avoid ineffective treatment and prescribe an alternative therapy. This study aimed to assess clinical significance of the *ADRB2* gene polymorphisms (*Arg16Gly* and *Gln27Glu*) associated with the therapeutic response to  $\beta_2$ -agonists in the group of asthma patients. We subjected a small group of adult nonsmoking patients ( $n = 21$ ) with moderate asthma (III–IV stage of GINA) to clinical and genetic examination. The group included patients with the new theratype, those that poorly respond to  $\beta_2$ -adrenergic drugs but significantly to M-cholinergic agonists. The first group included patients responding well to both salbutamol and ipratropium bromide. The second group was comprised of the patients for whom salbutamol was not effective but who tested positive for response to ipratropium bromide. The analysis of distribution of polymorphic variants of *Arg16Gly* and *Gln27Glu* revealed no significant relationship between alleles and genotypes and the efficacy of  $\beta_2$ -agonists (0.52 for the rs1042713 variant,  $p = 1.0$ ; 1.0 for the rs1042714 variant,  $p = 0.74$ , respectively). The genotype of patients that did not respond to salbutamol was either *Arg16Gly* or *Gly16Gly*. Further studies are needed that would involve a larger number of patients and an expanded list of the tested polymorphic variants.

**Keywords:** asthma, asthma control, gene polymorphism,  $\beta_2$ -adrenergic receptors, *ADRB2*, *Arg16*, *Gly16*, bronchodilators, short-acting  $\beta_2$ -agonists, SABA, short-acting anticholinergics, SAMA, long-acting anticholinergics, LABA

**Funding:** the study was supported by the Russian Foundation for Basic Research as part of the Project #19-33-90076.

**Acknowledgments:** we would like to thank the Biomedicine Center for High-Precision Editing and Genetic Technologies of Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia) for access to the molecular genetics systems.

**Author contribution:** Mdinaradze DS, Pavlova KS, Kurbacheva OM — selection of patients, clinical laboratory and instrumental examinations, collection of biological material; Kozlov IB, Kofiadi IA — development of the new PCR test system for analysis of the *ADRB2* gene polymorphic variants, genetic testing execution.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the ethics committee of the Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency (Minutes #13 of October 16, 2017); all patients signed voluntary consent to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ksenia S. Pavlova  
Kashirskoe shosse, 24, Moscow, 115522; ksenimedical@gmail.com

**Received:** 25.11.2020 **Accepted:** 09.12.2020 **Published online:** 26.12.2020

**DOI:** 10.24075/brsmu.2020.083

Персонализированная медицина позволяет с помощью современных молекулярно-генетических технологий (фармакогенетическое тестирование, выявление геномных и транскриптомных биомаркеров) индивидуализировать выбор лекарственного средства [1]. Значительный интерес в этом смысле представляет бронхиальная астма (БА), поскольку и сама патология, и реакция на терапию БА имеют в своей основе существенный генетический компонент [2–5]. Так, изменение функциональной активности  $\beta_2$ -адренорецептора (*ADRB2*), связанное с полиморфизмом кодирующего его гена, может приводить к низкому фармакологическому ответу на  $\beta_2$ -агонисты, составляющему основу терапии БА [6, 7].

По данным базы Ensembl [8], ген *ADRB2* весьма полиморфен и содержит в кодирующей части более 500 однонуклеотидных замен и инсерционно-делеционных полиморфизмов. Из них 276 представляют собой миссенс-мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания или возникновению стоп-кодона. С точки зрения ответа на противоастматическую терапию наиболее интересны три полиморфных варианта гена, для которых указана ассоциация с эффективностью ответа на  $\beta_2$ -агонисты: Arg16Gly (rs1042713), Gln27Glu (rs1042714) и Thr164Ile (rs1800888). Однако ассоциации, установленные для этих молекулярно-генетических маркеров, демонстрируют плохую воспроизводимость в различных исследованиях [9–11]. В связи с этим вопрос о возможности клинического применения результатов генетического тестирования по полиморфным вариантам гена *ADRB2* до сих пор остается открытым [12–14].

Среди причин, по которым клинический эффект того или иного полиморфного варианта гена может не находить подтверждения в различных исследованиях, — популяционная гетерогенность, недостаточный объем выборки, неполная характеристика групп сравнения [15, 16]. Таким образом, необходимо дальнейшее изучение молекулярных механизмов патогенеза БА с привлечением к исследованию многочисленных когорт из различных популяций. Следует отметить, что в России такие работы практически не ведутся.

Несмотря на это клиницисты уже сегодня обладают опытом и необходимым инструментарием для использования фармакогенетического тестирования на практике. Представляется интересным подойти к вопросу установления клинической значимости генетических маркеров с другой стороны. Мы не ставили целью установление ассоциации маркера с признаком, а напротив, проверяли применимость маркеров с уже установленной ассоциацией для ограниченной, охарактеризованной нами с клинической точки зрения когорты пациентов [17]. Подтверждение значимости фармакогенетических маркеров для данной группы позволило бы уже сегодня использовать результаты генетического тестирования в качестве дополнительного обоснования при принятии решения о лечении пациентов, торпидных к стандартной терапии.

Таким образом, целью настоящего исследования было оценить клиническую значимость ассоциированных с терапевтическим ответом на  $\beta_2$ -агонисты полиморфных вариантов гена *ADRB2* для группы пациентов с описанным нами ранее редким типом БА.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Пациенты

Критерии включения пациентов в исследование: наличие подписанного информированного согласия на участие в

исследовании; возраст пациентов любого пола — 18 лет и старше; наличие тяжелой атопической бронхиальной астмы; длительность заболевания не менее двух лет; способность адекватно оценивать свои симптомы и соблюдать рекомендации; подтвержденная обратимость бронхиальной обструкции (после ингаляции 400 мкг сальбутамола прирост ОФВ1 у пациента составляет 12% и 200 мл и более). Приемлемым считали наличие документально подтвержденной обратимости бронхиальной обструкции в пределах 12 месяцев до подписания информированного согласия.

Критерии исключения: острое инфекционное заболевание (до момента выздоровления), обострение сопутствующего хронического заболевания (до стабилизации состояния); наличие у пациента любого клинически значимого, неконтролируемого медицинского состояния, по поводу которого пациент получает или не получает лечение, и которое будет препятствовать соблюдению графика или процедур исследования, интерпретации данных по эффективности или представлять угрозу для безопасности данного пациента; наличие у пациента диагностированного злокачественного новообразования; развитие серьезного нежелательного явления в ходе проведения исследования.

В исследовании приняли участие взрослые некурящие пациенты ( $n = 21$ ) русской этнической принадлежности обоего пола (8 мужчин и 13 женщин), средний возраст которых составил 53 года (минимальный — 47, максимальный — 63), страдающих БА средней степени тяжести (III–IV степень по GINA); средняя продолжительность заболевания составляла 13 лет (минимальная — 1 год, максимальная — 32 года). Всем пациентам в качестве основной терапии назначали ингаляционные кортикостероиды в средних или высоких дозах в сочетании с ДДБА, при этом контроль над симптомами БА у них отсутствовал или был неполным: присутствовала ежедневная потребность в симптоматической терапии; результаты теста по контролю астмы АСТ (Asthma Control Test) составляли 15–20 баллов; объем форсированного выдоха за 1 с (ОФВ1) до использования бронхолитика достигал  $70,6 \pm 5\%$  от нормальных величин. Пациенты были разделены на две группы. В первую ( $n = 14$ ) были определены пациенты с клинически и инструментально подтвержденной эффективностью сальбутамола (увеличение объема форсированного выдоха за 1 с (ОФВ1) — более 12% и более 200 мл после ингаляции 400 мкг сальбутамола), которые в то же время имели хороший ответ на 50 мкг ипратропия бромида (КДБА+КДХП+). Во вторую группу ( $n = 7$ ) вошли пациенты с низкой эффективностью лечения сальбутамолом (прирост ОФВ1 менее 12% и менее 200 мл после ингаляции 400 мкг сальбутамола) и положительным тестом (прирост ОФВ1 более 12% и более 200 мл через 30 мин) после ингаляции 50 мкг ипратропия бромида (КДБА-КДХП+).

### Генетические маркеры

Ген *ADRB2* расположен на длинном плече хромосомы 5q32 рядом с кластером генов, кодирующих цитокины и глюкокортикоидный рецептор. *ADRB2* относится к генам рецепторных молекул, контролирующим лабильность бронхов [18].

Полиморфизм Arg16Gly (международный код полиморфизма: rs1042713) представляет собой однонуклеотидную замену в кодирующей области гена *ADRB2*, где происходит замена нуклеотида гуанина (G)

на аденин (А) (генетический маркер G46A). В результате данной замены в аминокислотной последовательности белка *ADRB2* в позиции 16 аргинин заменяется на глицин (Arg16Gly). Таким образом, возможны следующие варианты: Arg16Arg, Arg16Gly, Gly16Gly. В исследованиях *in vitro* было показано изменение функциональной активности *ADRB2* [19]. По некоторым результатам, больные, гомозиготные по этим вариантам гена, быстро теряют чувствительность к короткодействующим  $\beta_2$ -агонистам (КДБА) и нуждаются в назначении гормональных препаратов [14].

Полиморфизм Glu27Gln (международный код полиморфизма: rs1042714) представляет собой однонуклеотидную замену цитозина на гуанин (генетический маркер С79G). В результате данной замены в аминокислотной последовательности белка *ADRB2* в позиции 27 глутамин заменяется на глутаминовую кислоту (Glu27Gln). В исследовании Martinez и соавторов было показано, что аллель Glu27 ассоциирован с пониженной чувствительностью дыхательных путей пациентов с БА к метахолину [20].

### Очистка ДНК и проведение типирования

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Полученные образцы сразу использовали для генотипирования либо хранили при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Концентрация ДНК, определенная на специализированном флуориметре Qubit (Invitrogen; США), составляла в среднем 50–100 мкг/мл. Анализ полиморфных вариантов rs1042713 и rs1042714 гена *ADRB2* проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе «DTprime» («ДНК-Технология»; Россия) с использованием праймеров *ADRB2*-f: 5'-AGTGCCTCACCTGCCAGACTG-3' и *ADRB2*-r: 5'-CCAAACACGATGGCCAGGACGA-3'. Синтез праймеров осуществляли на твердой подложке с использованием инвертированных (5') фосфорамидитов и фоторазрушаемых линкеров. Последние использовали для снятия праймеров с твердой фазы за счет действия ультрафиолетового излучения.

Для определения генотипов использовали метод примыкающих зондов с модификациями [21]. Применяемый подход выгодно отличается от большинства молекулярно-генетических методов определения полиморфизмов одиночных нуклеотидов, в том числе использующих технологию TaqMan. Определение генотипа происходит дважды, независимо по двум каналам флуоресценции, что существенно повышает надежность генотипирования и практически нереализуемо другими способами. Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 35 мкл, которая содержала 2,5 мкл  $10\times$  Taq-буфера (67 мМ трис-HCl (рН 8,8), 16,6 мМ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2,5 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы («ДНК-Технология»; Россия) и 5–10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров и зондов. Использовали следующий температурный режим амплификации:  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  — 10 с,  $64\text{ }^{\circ}\text{C}$  — 30 с в течение 50 циклов. По завершении реакции амплификации реакционную смесь остужали до  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{с}$ . Кривые плавления получали следующим образом: температуру реакционной смеси повышали с  $25$  до  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$  с шагом в  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , измеряя уровень флуоресценции на каждом шаге.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы MS Excel 2013 (Microsoft; США) с

использованием точного критерия Фишера для проверки соответствия наблюдаемого распределения частот генотипов [24, 25]. Различия между группами считали значимыми при  $p < 0,05$ . Частоту аллелей вычисляли по формуле:

$$f = n/2N * 100\%,$$

где  $n$  — встречаемость аллеля.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены полиморфные варианты rs1042713 и rs1042714 (вариант rs1800888 не включен в исследование из-за низкой встречаемости [24, 25]). Для решения поставленной цели нами была разработана новая тест-система для анализа полиморфных вариантов гена *ADRB2* методом ПЦР в реальном времени и подтверждена ее работоспособность методом прямого определения последовательности (секвенирования) для гомозиготных и гетерозиготных образцов (рис. 1).

В ходе исследования нами были сформированы группы сравнения из пациентов Института иммунологии ФМБА России, относящихся к разным типам БА; проведены их генотипирование и анализ различий в представленности аллелей и генотипов в группах сравнения. Результаты генотипирования представлены в таблице.

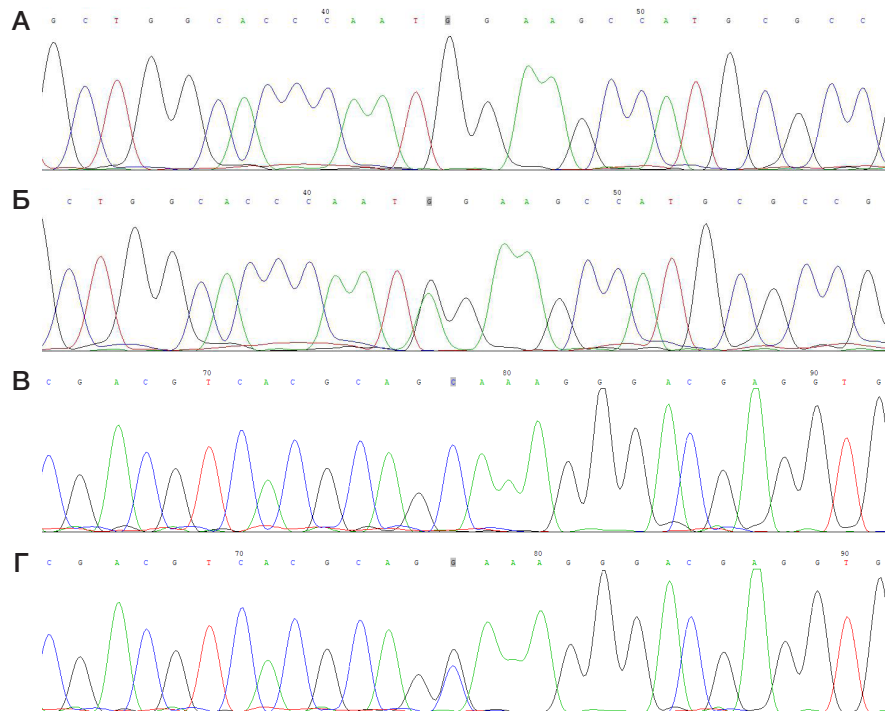
### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведено клиническое и генетическое обследование пациентов страдающих БА средней степени тяжести (III–IV степень по GINA) с вариабельным фармакологическим ответом на  $\beta_2$ -агонисты, где КДБА+КДХП+ — пациенты с клинически и инструментально подтвержденной эффективностью сальбутамола, а КДБА–КДХП+ — пациенты, имевшие низкий ответ на сальбутамол и положительный ответ на ипратропия бромид. Подробная клиническая характеристика для групп пациентов, разных типов была приведена нами ранее [17]. Определены аллели и генотипы пациентов по вариантам гена  $\beta_2$ -адренорецептора *ADRB2* rs1042713 (Arg16Gly) и rs1042714 (Glu27Gln).

### Полиморфизм Arg16Gly (rs1042713)

Среди пациентов КДБА+КДХП+ / КДБА–КДХП+ частота гетерозигот в группе с плохой эффективностью терапии сальбутамолом была в 1,5 раза больше по сравнению с пациентами с хорошим терапевтическим ответом. У пациентов обеих групп выявление аллелей Arg16 и Gly16 было отмечено с одинаковой частотой (см. табл.).

Показано, что полиморфизм Arg16Gly связан с десенситизацией рецептора *ADRB2*. Рецептор, имеющий в структуре Gly16Gly, в большей степени подвержен десенситизации эндогенными катехоламинами в сравнении с рецептором, имеющим в своей структуре Arg16Arg или Arg16Gly [26]. По данным литературы, выявлена вариабельность ответа на применение  $\beta_2$ -агонистов [27]. Наши данные частично согласуются с данными, согласно которым отсутствует терапевтический ответ на терапию ингаляционными  $\beta_2$ -агонистами у больных БА с преобладанием аллеля Gly (генотипы Arg16Gly и Gly16Gly) [28]. В нашем исследовании пациенты с отсутствием ответа на сальбутамол в 100% случаев



**Рис. 1.** Результаты секвенирования гомозиготных и гетерозиготных образцов. Варьирующие нуклеотиды выделены серым цветом. Гомозиготы характеризует единственный пик на хроматограмме в позиции полиморфизмов rs1042713 и 1042714 (А и В соответственно). Гетерозиготы характеризует двойной пик в позиции полиморфизмов rs1042713 и 1042714 (Б и Г соответственно)

имели либо генотип Arg16Gly, либо Gly16Gly, однако при оценке влияния аллеля Gly на плохой ответ на  $\beta_2$ -агонисты мы такой связи не подтвердили (отношение шансов [OR] 1,00; 95% CI 0,26–3,81). Наиболее выраженный ответ на однократное введение  $\beta_2$ -адреномиметика выявлен в группе пациентов, гомозиготных по Arg в положении 16 (Arg16Arg), по сравнению с гомозиготами по Gly в данном положении (генотип Gly16Gly) [20]. В другом исследовании тоже подтверждено, что генотип Arg16Arg ассоциируется с легкой формой БА и лучшим ответом на сальбутамол [29]. По нашим данным, в группе КДБА+КДХП+ с хорошим ответом на сальбутамол в 14% случаев тоже был выявлен генотип Arg16Arg (в группе с плохим ответом на сальбутамол такой генотип не встречался).

К сожалению, в связи с редкой встречаемостью тератипа КДБА–КДХП+ среди пациентов с БА мы смогли включить в данную группу лишь небольшое число пациентов. Вероятно, дальнейшее выявление таких пациентов и проведение исследования на большей выборке позволят получить статистически значимые различия.

#### Полиморфизм Glu27Gln (rs1042714)

Распределение генотипов и аллелей для 27-й позиции среди пациентов КДБА+КДХП+ / КДБА–КДХП+ было практически идентичным и не имело статистически достоверных различий между этими двумя группами (см. табл.). При этом нами было выявлено относительно большее число гетерозигот Gln27Glu (64%) в группе КДБА+КДХП+ по сравнению с частотой 45,7%, установленной ранее для русской популяции [30], однако данное наблюдение требует подтверждения на большей выборке.

Ограниченность исследований, посвященных изучению полиморфизма Gln27Glu и вариабельности ответа на  $\beta_2$ -агонисты, а также противоречивость этих результатов не позволяют соотнести полученные нами данные с литературными. В основном изучали распределение

частот генотипов при разной степени тяжести БА. Так, было показано преобладание генотипа Glu27Glu среди пациентов с тяжелой астмой (55 и 75% соответственно) [31, 32]. В другой работе у пациентов с БА распределение генотипов для 27-й позиции было следующим: Glu27Glu — 9,2%, Gln27Glu — 27,8%, Gln27Gln — 63%, при этом не было выявлено различий у пациентов с разной степенью тяжести и ответом на  $\beta_2$ -агонисты [29]. Таким образом данные, полученные в настоящем исследовании, согласуются с данными [29] об отсутствии взаимосвязи ответа на  $\beta_2$ -агонисты и полиморфизмом rs1042714 (Gln27Glu).

В проводимом исследовании мы не оценивали другие полиморфизмы гена ADRB2, способные влиять на вариабельность ответа на  $\beta_2$ -агонисты. Возможно, что в основе плохого ответа на сальбутамол у пациентов с редким тератипом КДБА–КДХП+ лежат иные, негенетические причины десенситизации гена ADRB2.

#### ВЫВОДЫ

Анализ распределения полиморфных вариантов rs1042713 (Arg16Gly) гена ADRB2 показал, что пациенты с отсутствием ответа на  $\beta_2$ -агонисты (сальбутамол) в 100% случаев имели генотип Arg16Gly либо Gly16Gly, однако при оценке влияния наличия аллеля Gly на плохой ответ на  $\beta_2$ -агонисты мы такой связи не подтвердили, что может быть обусловлено малочисленной выборкой. Мы не выявили различий в распределении частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs1042714 (Gln27Glu) при сравнении групп пациентов с различным клиническим ответом на  $\beta_2$ -агонисты. Возможно, что дальнейшее исследование с включением большего числа пациентов с БА с редким тератипом КДБА–КДХП+ позволит выявить статистически значимые различия в распределении полиморфных вариантов rs1042713 (Arg16Gly). В проведенном исследовании мы не оценивали возможное влияние

**Таблица.** Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs1042713 (Arg16Gly) и rs1042714 (Gln27Glu) гена *ADRB2* у пациентов с БА и различными терапиями (КДБА+КДХП+ — пациенты с клинически и инструментально подтвержденной эффективностью салбутамола)

Группа пациентов, n (%)	Arg16Gly						
	Аллели			Генотипы			
	Arg	Gly	p-value	Arg16Arg	Arg16Gly	Gly16Gly	p-value
КДБА+КДХП+ (n = 14)	10 (36%)	18 (64%)	1	2 (14%)	6 (43%)	6 (43%)	0,52
КДБА-КДХП+ (n = 7)	5 (36%)	9 (64%)		0	5 (71%)	2 (29%)	
Все пациенты (n = 21)				2 (10%)	11 (52%)	8 (38%)	
	Gln27Glu						
	Аллели			Генотипы			
	Glu	Gln	p-value	Glu27Glu	Gln27Glu	Gln27Gln	p-value
КДБА+КДХП+ (n = 14)	17 (61%)	9 (39%)	0,74	4 (29%)	9 (64%)	1 (7%)	1
КДБА-КДХП+ (n = 7)	8 (57%)	6 (43%)		2 (29%)	4 (57%)	1 (14%)	
Все пациенты (n = 21)				6 (28%)	13 (62%)	2 (10%)	

других полиморфизмов гена *ADRB2* на вариабельность ответа на  $\beta_2$ -агонисты. Целесообразно включение в дальнейшее исследование редких функциональных вариантов, установленных в результате ресеквенирования

полиэтнических когорт. Кроме того, с плохим ответом на салбутамола у пациентов с редким типом КДБА-КДХП+ могут быть связаны иные, негенетические причины десенситизации гена *ADRB2*.

## Литература

- Hicks JK, Aquilante CL, Dunnenberger HM, Gammal RS, Funk RS, Aitken SL, Bright, et al. Precision Pharmacotherapy: Integrating Pharmacogenomics into Clinical Pharmacy Practice. *Journal of the American College of Clinical Pharmacy: JACCP*, 2019; 2 (3): 303–13. Available from: <https://doi.org/10.1002/jac5.1118>.
- Hüls A, Vanker A, Gray D, Koen N, MacIsaac JL, Lin DT, et al. Genetic susceptibility to asthma increases the vulnerability to indoor air pollution. *Eur Respir J*. 2020 Mar 26; 55 (3): 1901831. DOI: 10.1183/13993003.01831-2019. PMID: 31949118.
- Kabesch M, Tost J. Recent findings in the genetics and epigenetics of asthma and allergy. *Semin Immunopathol*. 2020; 42: 43–60. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00281-019-00777-w>.
- Makoui MH, Imani D, Motallebnezhad M, Azimi M, Razi B. Vitamin D receptor gene polymorphism and susceptibility to asthma: Meta-analysis based on 17 case-control studies. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2020 Jan; 124 (1): 57–69. DOI: 10.1016/j.anai.2019.10.014. Epub 2019 Oct 22. PMID: 31654764.
- Perez-Garcia J, Espuela-Ortiz A, Lorenzo-Diaz F, Pino-Yanes M. Pharmacogenetics of Pediatric Asthma: Current Perspectives. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2020; 13: 89–103. Available from: [doi.org/10.2147/PGPM.S201276](https://doi.org/10.2147/PGPM.S201276).
- Hikino K, Shinobu Kobayashi S, Erika Ota E, Taisei Mushiroda T, Urayama K, Kobayashi T. A meta-analysis of the influence of *ADRB2* genetic polymorphisms on albuterol (salbutamol) therapy in patients with asthma. *British Journal of Clinical Pharmacology*. Wiley Online Library, 2020. Available from: [doi.org/10.1111/bcp.14570](https://doi.org/10.1111/bcp.14570).
- Karimi L, Vijverberg S, Engelkes M, Hernandez-Pacheco N, Farzan N, Soares P. *ADRB2* haplotypes and risk of exacerbations in asthmatic children and young adults treated with long-acting  $\beta_2$ -agonists: A meta-analysis in the PiCA consortium. *Eur Respiratory Soc*. 2019. DOI: 10.1183/13993003.congress-2019.PA5388.
- Yates AD, Achuthan P, Akanni W, Allen J, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amodio MR, Armean IM, Azov AG, Bennett R, et al. *Ensembl 2020*. *Nucleic Acids Res*. 2019. DOI: 10.1093/nar/gkz966.
- Akparova A, Aripova A, Abishev M, Kazhiyakhmetova B, Pirmanova A, Bersimbaev R. An investigation of the association between *ADRB2* gene polymorphisms and asthma in Kazakh population. *Clin Respir J*. 2020 Jun; 14 (6): 514–20. DOI: 10.1111/crj.13160. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32034992.
- Khan I, Ul-Haq Z, Shaheen A, Zaman M, Ahmad N, Abbasi R, et al. Association of arg16gly and gln27glu, b2-adrenergic receptor gene polymorphism with asthma. A systematic review and meta-analysis of case control studies. *J Pak Med Assoc*. 2018 Jan; 68 (1): 90–97. PMID: 29371726.
- Vijverberg S, Farzan N, Slob E, Anne H. Neerinx, Anke H. Maitland-van der Zee. Treatment response heterogeneity in asthma: the role of genetic variation, *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2018; 12: 55–65, DOI: 10.1080/17476348.2018.1403318.
- Bleecker ER, Postma DS, Lawrance RM, Meyers DA, Ambrose HJ, Goldman M. Effect of *ADRB2* polymorphisms on response to longacting beta2-agonist therapy: a pharmacogenetic analysis of two randomised studies. *Lancet*. 2007 Dec 22; 370 (9605): 2118–25. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61906-0. PMID: 18156033.
- Bleecker ER, Yancey SW, Baitinger LA, Edwards LD, Klotsman M, Anderson WH, Dorinsky PM. Salmeterol response is not affected by beta2-adrenergic receptor genotype in subjects with persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Oct; 118 (4): 809–16. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.06.036. Epub 2006 Aug 28. PMID: 17030231.
- Wechsler ME, Lehman E, Lazarus SC, Lemanske RF, Boushey HA, Deykin A, et al.  $\beta$ -Adrenergic receptor polymorphisms and response to salmeterol. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2006; 173 (5): 519–26. Available from: <https://doi.org/10.1164/rccm.200509-1519OC>.
- Slob EMA, Vijverberg SJH, Palmer CNA, Zazuli Z, Farzan N, Oliveri N, et al. Pharmacogenetics of inhaled long-acting beta2-agonists in asthma: a systematic review. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2018; 29 (7): 705–14. Available from: <https://doi.org/10.1111/pai.12956>.
- Zhang E, Levin AM, Williams LK. How does race and ethnicity effect the precision treatment of asthma? *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development*. Taylor & Francis. 2019; 4 (6): 337–56.
- Pavlova K, Mdinardze D, Kurbacheva O. The response variability of the asthma patients to the standard pharmacotherapy. *Russian Journal of Allergy*. 2019; 16 (2): 20–24.
- Ortega VE, Hawkins GA, Moore WC, Hastie AT, Ampleford EJ, Busse WW, et al. Effect of rare variants in *ADRB2* on risk of severe exacerbations and symptom control during longacting — agonist treatment in a multiethnic asthma population: a genetic study. *Lancet Respir Med*. 2014 Mar; 2 (3): 204–13. DOI: 10.1016/S2213-2600(13)70289-3. Epub 2014 Jan 27. PMID: 24621682; PMCID: PMC4053167.
- Савельева О. Н., Карунас А. С., Федорова Ю. Ю., Хуснутдинова Э. К. Фармакогенетика бронхиальной астмы.

- Медицинская генетика. 2019; 18 (4): 3–23.
20. Асанов А. Ю., Намазова Л. С., Пинелис В. Г., Журкова Н. В., Вознесенская Н. И. Генетические основы бронхиальной астмы. *Педиатрическая фармакология*. 2008; 5 (4): 31–33.
  21. Nikiforova AI, Abramov DD, Kadochnikova VV, Zobkova GU, Ogurtsova KA, Brjuhanova NO, et al. Determining the frequency of pah mutations in Moscow region residents with phenylketonuria using a combination of real-time PCR and next-generation sequencing. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2017; 4: 38–44.
  22. Martinez ED, Graves PE, 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; 10: 3184–8. DOI:10.1172/JCI119874.
  23. Батенева Е., Максименко В., Кадочникова В., Кофиади И., Трофимов Д., Рагимов А. Выявление мутаций в генах BRCA1 и BRCA2-перспективность проведения генетического скрининга на базе организаций службы крови. *Медицинская генетика*. 2014; 13 (4): 30–34.
  24. Ambrosius WT, Lange EM, Langefeld CD. Power for genetic association studies with random allele frequencies and genotype distributions. *Am J Hum Genet*. 2004 Apr; 74 (4): 683–93. DOI: 10.1086/383282. Epub 2004 Mar 12. PMID: 15024689; PMCID: PMC1181944.
  25. Ryman N, Palm S, André C, Carvalho G, Dahlgren T, Jorde P. Power for detecting genetic divergence: differences between statistical methods and marker loci. *Molecular Ecology*. Wiley Online Library. 2006; 15 (8): 2031–45. Available from: doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02839.x.
  26. Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry*. 1994 Aug 16; 33 (32): 9414–9. DOI: 10.1021/bi00198a006. Erratum in: *Biochemistry* 1994 Nov 29; 33 (47): 14368. PMID: 7915137.
  27. Turner SW, Khoo SK, Laing IA, Palmer LJ, Gibson NA, Rye P, et al.  $\beta_2$ -adrenoceptor Arg16Gly polymorphism, airway responsiveness, lung function and asthma in infants and children. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34 (7): 1043–8. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2004.02001.x.
  28. Finkelstein Y, Bournissen FG, Hutson JR, Shannon M. Polymorphism of the ADRB2 gene and response to inhaled beta-agonists in children with asthma: a meta-analysis. *J Asthma*. 2009; 46 (9): 900–5. DOI:10.3109/02770900903199961.
  29. Jovicic N, Babic T, Dragicevic S, Nestorovic B, Nikolic A. ADRB2 gene polymorphisms and salbutamol responsiveness in serbian children with asthma. *VJMG*. 2018; 21: 133–138. DOI: 10.2478/bjmg-2018-0007.
  30. Кофиади И. А., Кадочникова В. В., Абрамов Д. Д., Гончарова Е. В., Алексеев Л. П., Хайтов Р. М. Частота встречаемости 100 клинически значимых однонуклеотидных полиморфизмов у здоровых представителей русской популяции. *Физиология и патология иммунной системы*. 2011; 15 (2): 3–9.
  31. Федорова Ю. Ю., Карунас А. С., Мурзина Р. Р., Мухтарова Л. А., Рамазанова Н. Н., Гималова Г. Ф. Исследование ассоциации полиморфных вариантов гена  $\beta_2$ -адренергического рецептора с бронхиальной астмой у русских. *Пульмонология. Антимикробная терапия*. 2013; 17: 116–20.
  32. Park HW, Yang MS, Park CS, Kim TB, Moon HB, Min KU. Additive role of tiotropium in severe asthmatics and Arg16Gly in ADRB2 as a potential marker to predict response. *Allergy* 2009; (64): 778–83. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2008.01876.x.

## References

1. Hicks JK, Aquilante CL, Dunnenberger HM, Gammal RS, Funk RS, Aitken SL, Bright, et al. Precision Pharmacotherapy: Integrating Pharmacogenomics into Clinical Pharmacy Practice. *Journal of the American College of Clinical Pharmacy: JACCP*, 2019; 2 (3): 303–13. Available from: <https://doi.org/10.1002/jac5.1118>.
2. Hüls A, Vanker A, Gray D, Koen N, Maclsaac JL, Lin DT, et al. Genetic susceptibility to asthma increases the vulnerability to indoor air pollution. *Eur Respir J*. 2020 Mar 26; 55 (3): 1901831. DOI: 10.1183/13993003.01831-2019. PMID: 31949118.
3. Kabesch M, Tost J. Recent findings in the genetics and epigenetics of asthma and allergy. *Semin Immunopathol*. 2020; 42: 43–60. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00281-019-00777-w>.
4. Makoui MH, Imani D, Motallebnezhad M, Azimi M, Razi B. Vitamin D receptor gene polymorphism and susceptibility to asthma: Meta-analysis based on 17 case-control studies. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2020 Jan; 124 (1): 57–69. DOI: 10.1016/j.anai.2019.10.014. Epub 2019 Oct 22. PMID: 31654764.
5. Perez-Garcia J, Espuela-Ortiz A, Lorenzo-Diaz F, Pino-Yanes M. Pharmacogenetics of Pediatric Asthma: Current Perspectives. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2020; 13: 89–103. Available from: doi.org/10.2147/PGPM.S201276.
6. Hikino K, Shinobu Kobayashi S, Erika Ota E, Taisei Mushiroya T, Urayama K, Kobayashi T. A meta-analysis of the influence of ADRB2 genetic polymorphisms on albuterol (salbutamol) therapy in patients with asthma. *British Journal of Clinical Pharmacology*. Wiley Online Library, 2020. Available from: doi.org/10.1111/bcp.14570.
7. Karimi L, Vijverberg S, Engelkes M, Hernandez-Pacheco N, Farzan N, Soares P. ADRB2 haplotypes and risk of exacerbations in asthmatic children and young adults treated with long-acting  $\beta_2$ -agonists: A meta-analysis in the PiCA consortium. *Eur Respiratory Soc*. 2019. DOI: 10.1183/13993003.congress-2019.PA5388.
8. Yates AD, Achuthan P, Akanni W, Allen J, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amode MR, Armean IM, Azov AG, Bennett R, et al. Ensembl 2020. *Nucleic Acids Res*. 2019. DOI: 10.1093/nar/gkz966.
9. Akparova A, Aripova A, Abishev M, Kazhiyakhmetova B, Pirmanova A, Bersimbaev R. An investigation of the association between ADRB2 gene polymorphisms and asthma in Kazakh population. *Clin Respir J*. 2020 Jun; 14 (6): 514–20. DOI: 10.1111/crj.13160. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32034992.
10. Khan I, Ul-Haq Z, Shaheen A, Zaman M, Ahmad N, Abbasi R, et al. Association of arg16gly and gln27glu,  $\beta_2$ -adrenergic receptor gene polymorphism with asthma. A systematic review and meta-analysis of case control studies. *J Pak Med Assoc*. 2018 Jan; 68 (1): 90–97. PMID: 29371726.
11. Vijverberg S, Farzan N, Slob E, Anne H. Neerinx, Anke H. Maitland-van der Zee. Treatment response heterogeneity in asthma: the role of genetic variation, Expert Review of Respiratory Medicine. 2018; 12: 55–65, DOI: 10.1080/17476348.2018.1403318.
12. Bleecker ER, Postma DS, Lawrance RM, Meyers DA, Ambrose HJ, Goldman M. Effect of ADRB2 polymorphisms on response to longacting beta2-agonist therapy: a pharmacogenetic analysis of two randomised studies. *Lancet*. 2007 Dec 22; 370 (9605): 2118–25. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61906-0. PMID: 18156033.
13. Bleecker ER, Yancey SW, Baitinger LA, Edwards LD, Klotsman M, Anderson WH, Dorinsky PM. Salmeterol response is not affected by beta2-adrenergic receptor genotype in subjects with persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Oct; 118 (4): 809–16. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.06.036. Epub 2006 Aug 28. PMID: 17030231.
14. Wechsler ME, Lehman E, Lazarus SC, Lemanske RF, Boushey HA, Deykin A, et al.  $\beta$ -Adrenergic receptor polymorphisms and response to salmeterol. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2006; 173 (5): 519–26. Available from: <https://doi.org/10.1164/rccm.200509-1519OC>.
15. Slob EMA, Vijverberg SJH, Palmer CNA, Zazuli Z, Farzan N, Oliveri N, et al. Pharmacogenetics of inhaled long-acting beta2-agonists in asthma: a systematic review. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2018; 29 (7): 705–14. Available from: <https://doi.org/10.1111/pai.12956>.
16. Zhang E, Levin AM, Williams LK. How does race and ethnicity effect the precision treatment of asthma? *Expert Review of*

- Precision Medicine and Drug Development. Taylor & Francis. 2019; 4 (6): 337–56.
17. Pavlova K, Mdinaradze D, Kurbacheva O. The response variability of the asthma patients to the standard pharmacotherapy. *Russian Journal of Allergy*. 2019; 16 (2): 20–24.
  18. Ortega VE, Hawkins GA, Moore WC, Hastie AT, Ampleford EJ, Busse WW, et al. Effect of rare variants in ADRB2 on risk of severe exacerbations and symptom control during longacting — agonist treatment in a multiethnic asthma population: a genetic study. *Lancet Respir Med*. 2014 Mar; 2 (3): 204–13. DOI: 10.1016/S2213-2600(13)70289-3. Epub 2014 Jan 27. PMID: 24621682; PMCID: PMC4053167.
  19. Savelieva ON, Karunas AS, Fedorova YuYu, Khusnutdinova EK. Farmakogenetika bronhial'noj astmy. *Medicinskaja genetika*. 2019; 18 (4): 3–23. Dostupno po ssylke: doi.org/10.25557/2073-7998.2019.04. 3-23. Russian.
  20. Asanov AY, Namazova LS, Pinelis VG, Zhurkova NV, Voznesenskaya NI. Geneticheskie osnovy bronhial'noj astmy. *Pediatricheskaja farmakologija*. 2008; 5 (4): 31–33. Russian.
  21. Nikiforova AI, Abramov DD, Kadochnikova VV, Zobkova GU, Ogurtsova KA, Brijuhanova NO, et al. Determining the frequency of pah mutations in Moscow region residents with phenylketonuria using a combination of real-time PCR and next-generation sequencing. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2017; 4: 38–44.
  22. Martinez ED, Graves PE, 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; 10: 3184–8. DOI:10.1172/JCI119874.
  23. Bateneva E, Maksimenko V, Kadochnikova V, Kofiadi I, Trofimov D, Ragimov A. Vyjavlenie mutacij v genah BRCA1 i BRCA2-perspektivnost' provedenija geneticheskogo skringinga na baze organizacij sluzhby krovj. *Medicinskaja genetika*. 2014; 13 (4): 30–34. Russian.
  24. Ambrosius WT, Lange EM, Langefeld CD. Power for genetic association studies with random allele frequencies and genotype distributions. *Am J Hum Genet*. 2004 Apr; 74 (4): 683–93. DOI: 10.1086/383282. Epub 2004 Mar 12. PMID: 15024689; PMCID: PMC1181944.
  25. Ryman N, Palm S, André C, Carvalho G, Dahlgren T, Jorde P. Power for detecting genetic divergence: differences between statistical methods and marker loci. *Molecular Ecology*. Wiley Online Library. 2006; 15 (8): 2031–45. Available from: doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02839.x.
  26. Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry*. 1994 Aug 16; 33 (32): 9414–9. DOI: 10.1021/bi00198a006. Erratum in: *Biochemistry* 1994 Nov 29; 33 (47): 14368. PMID: 7915137.
  27. Turner SW, Khoo SK, Laing IA, Palmer LJ, Gibson NA, Rye P, et al.  $\beta$ 2-adrenoceptor Arg16Gly polymorphism, airway responsiveness, lung function and asthma in infants and children. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34 (7): 1043–8. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2004.02001.x.
  28. Finkelstein Y, Bournissen FG, Hutson JR, Shannon M. Polymorphism of the ADRB2 gene and response to inhaled beta-agonists in children with asthma: a meta-analysis. *J Asthma*. 2009; 46 (9): 900–5. DOI:10.3109/02770900903199961.
  29. Jovicic N, Babic T, Dragicevic S, Nestorovic B, Nikolic A. ADRB2 gene polymorphisms and salbutamol responsiveness in serbian children with asthma. *BJMG*. 2018; 21: 133–138. DOI: 10.2478/bjmg-2018-0007.
  30. Kofiadi IA, Kadochnikova VV, Abramov DD, Goncharova EV, Alekseev LP, Haitov RM. Chastota vstrechaemosti 100 klinicheskij znachimyh odnonukleotidnyh polimorfizmov u zdorovyh predstavitelej ruskoj populjacii. *Fiziologija i patologija immunnoj sistemy*. 2011; 15 (2): 3–9. Russian.
  31. Fedorova YuYu, Karunas AS, Murzina RR, Muhtarova LA, Ramazanova NN, Gimalova GF. Issledovanie asociacii polimorfnyh variantov gena  $\beta$ 2-adrenergicheskogo receptora s bronhial'noj astmoj u russskih. *Pul'monologija. Antimikrobnaja terapija*. 2013; 5 (74): 116–20. Russian.
  32. Park HW, Yang MS, Park CS, Kim TB, Moon HB, Min KU. Additive role of tiotropium in severe asthmatics and Arg16Gly in ADRB2 as a potential marker to predict response. *Allergy* 2009; (64): 778–83. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2008.01876.x.