

УДК 616.248:616.24-008.444:575.174.015.3

DOI: 10.12737/article\_5c898885553e15.87371124

**РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ГАМКЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ СИНДРОМА ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ СНА У БОЛЬНЫХ БРОНХАЛЬНОЙ АСТМОЙ**

Е.Г.Шелудько, Д.Е.Наумов, Д.А.Гассан, О.О.Котова, В.П.Колосов

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22*

РЕЗЮМЕ

SUMMARY

Результаты исследований последних лет свидетельствуют о потенциальной роли гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), как тормозного медиатора центральной нервной системы, в патогенезе синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) – распространенного нарушения, часто сопутствующего бронхиальной астме (БА). Целью исследования было изучить возможную роль полиморфизмов некоторых генов ГАМКергической системы в формировании СОАС у больных БА. У 184 больных БА был выполнен ночной кардиореспираторный мониторинг для диагностики СОАС, а также проведено спирометрическое исследование с оценкой реактивности дыхательных путей на бронхолитик фенотерол. Методом LATE-ПЦР были генотипированы полиморфизмы генов *GAD1*, *GAD2*, *GABBR1* и *GABBR2* (всего 15 полиморфизмов). При ассоциативном анализе с наличием СОАС значимые результаты были получены для полиморфизма rs3749034 гена *GAD1* и rs35400353 гена *GABBR2*. Полиморфизм rs3749034 существенно влиял на наличие СОАС у мужчин, что сопровождалось преобладанием генотипа *CC* среди больных СОАС, тогда как генотипы *CT+TT* чаще встречались у больных без СОАС (ОШ 3,9 95%ДИ [1,36–11,67],  $p=0,01$ ). При анализе в общей выборке полиморфизм *GAD1* rs3749034 являлся независимым фактором, увеличивающим вероятность наличия СОАС, после коррекции на значимые конфаундеры (ОШ 1,9 95%ДИ [1,23–3,15],  $p=0,005$ ). Полиморфизм rs35400353 также был ассоциирован с СОАС после коррекции на конфаундеры, хотя его взаимосвязь была менее значимой (ОШ 1,5 95%ДИ [1,1–2,3],  $p=0,04$ ). Для обоих полиморфизмов отмечалась тенденция к взаимосвязи с гиперреактивностью дыхательных путей на бронхолитик: для rs3749034 – в случае *CT+TT* генотипов, для rs35400353 – в случае *DD* генотипа. Полиморфизм rs3749034 также влиял на показатели вентиляционной функции легких. При условии дополнительной верификации результатов, выявленные генетические полиморфизмы могут быть использованы для индивидуального прогнозирования риска СОАС, а также разработки персонализированных подходов в терапии БА с использованием ГАМК.

*Ключевые слова:* синдром обструктивного апноэ сна, бронхиальная астма, генетический полиморфизм, гамма-аминомасляная кислота, гиперреактивность дыхательных путей.

**ROLE OF GABAERGIC SYSTEM GENETIC POLYMORPHISMS IN THE DEVELOPMENT OF OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA SYNDROME IN ASTHMA PATIENTS**

E.G.Sheludko, D.E.Naumov, D.A.Gassan, O.O.Kotova, V.P.Kolosov

*Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The results of recent studies indicate the potential role of gamma-aminobutyric acid (GABA), as an inhibitory mediator of the central nervous system, in the pathogenesis of obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) – a common disorder that often accompanies asthma. The aim of the study was to investigate the possible role of some GABAergic system genetic polymorphisms in the formation of OSAS in asthma patients. Overnight cardiorespiratory monitoring was performed to diagnose OSAS and spirometry was conducted to evaluate the airway reactivity to the bronchodilator fenoterol in 184 asthma patients. Polymorphisms of *GAD1*, *GAD2*, *GABBR1* and *GABBR2* genes (15 polymorphisms in total) were genotyped by LATE-PCR method. Significant results were obtained for rs3749034 polymorphism of *GAD1* gene and rs35400353 of *GABBR2* in association analysis with the presence of OSAS. rs3749034 significantly influenced the presence of OSAS in males, which was accompanied by the predominance of the *CC* genotype among patients with OSAS, while *CT+TT* genotypes were more common in patients without OSAS (OR 3.9 95%CI [1.36–11.67],  $p=0.01$ ). In total sample *GAD1* rs3749034 polymorphism was an independent factor increasing the likelihood of having OSAS after adjustment for significant confounders (OR 1.9 95%CI [1.23–3.15],  $p=0.005$ ). rs35400353 polymorphism was also associated with OSAS after adjustment for confounders, although its relationship was less significant (OR 1.5 95%CI [1.1–2.3],  $p=0.04$ ). There was a tendency for interrelation with airway hyperresponsiveness to bronchodilator for both polymorphisms: rs3749034 – in case of *CT+TT* genotypes, rs35400353 – in case of *DD* genotype. rs3749034 polymorphism also significantly influenced lung function parameters. After additional verification of the results, the identified genetic polymorphisms may be used to individually predict the risk of OSAS as well as for the development of personalized approaches in asthma treatment using GABA.

*Key words: obstructive sleep apnea syndrome, asthma, genetic polymorphism, gamma-aminobutyric acid, airway hyperresponsiveness.*

Синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) – распространенное нарушение, характеризующееся эпизодами частичной или полной обструкции верхних дыхательных путей во время сна, обычно приводящих к гипоксемии, гиперкапнии, изменениями внутригрудного давления, системного артериального давления и пробуждениями. Наряду с клинической значимостью, актуальность изучения СОАС обусловлена его исключительно высокой распространенностью. По данным недавнего систематического обзора, в общей популяции распространенность СОАС оценивается в 9-38%. При этом число лиц с СОАС средней и тяжелой степени также достаточно велико (6-17%) [15]. Еще более высокая распространенность СОАС отмечается среди больных бронхиальной астмой (БА) – проведенный мета-анализ установил, что в среднем 49,5% пациентов с БА имеют СОАС, 95% доверительный интервал составил 36,39-62,6% [9].

Важно, что СОАС может негативно влиять на течение астмы: больные с высоким риском СОАС имели в 2,87 раза более высокий шанс неконтролируемой БА, даже после коррекции на ожирение и прочие известные факторы, ухудшающие контроль заболевания [18]. По-видимому, даже СОАС легкой степени может predispose к формированию тяжелой БА, поскольку его наличие сопровождается нейтрофилией мокроты, а также более высокими уровнями интерлейкина-8 и матриксной металлопротеазы-9 – медиаторов, ассоциированных с ремоделированием дыхательных путей и нейтрофильным типом воспаления, которое, как известно, хуже контролируется глюкокортикоидными препаратами, чем эозинофильный тип [17]. С другой стороны, CPAP (Continuous Positive Airway Pressure)-терапия СОАС одновременно благоприятно влияет и на течение БА [2].

СОАС является многофакторным заболеванием, для которого традиционно выделяют такие факторы риска, как ожирение, мужской пол, курение, нарушение проходимости верхних дыхательных путей (хронические риниты, тонзиллиты), а также особенности строения черепа [1]. Определенную роль в генезе СОАС может играть наследственность: по некоторым данным, при исключении ожирения, как наиболее значимого наследуемого фактора, наследуемость СОАС составляет 25% [3], тогда как при учете ожирения может достигать 40% [13]. По сравнению с другими распространенными хроническими заболеваниями, генетические основы подверженности СОАС до настоящего времени остаются недостаточно изученными. Вместе с тем, знание данных основ может быть ключевым при разработке новых персонализированных стратегий терапии.

Одним из интересных и малоизученных патогенетических компонентов СОАС является избыточная релаксация поперечнополосатой мускулатуры глотки, языка и мягкого неба во время сна, на фоне чего воз-

растает коллабируемость верхних дыхательных путей. Возможной причиной данного феномена может являться преобладающее влияние гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – тормозного медиатора центральной нервной системы – на мотонейроны, контролирующие тонус мышц верхних дыхательных путей. В пользу данной гипотезы свидетельствуют результаты нескольких проведенных исследований. В одном из них, баклофен – селективный агонист метаболитных ГАМК-В рецепторов, используемый как центральный мышечный релаксант, снижал ночную сатурацию кислорода и увеличивал частоту развития событий апноэ-гипопноэ среди больных храпом с легкими нарушениями дыхания во сне [7]. Также было замечено, что прием габапентина – препарата, стимулирующего выработку ГАМК, приводит к существенному увеличению частоты ночных апноэ-гипопноэ у пожилых людей [12]. Среди детей, больных СОАС, была найдена повышенная концентрация ГАМК в утренней моче [8], а исследование 2016 года, проведенное в КНР, обнаружило полиморфизм гена первой субъединицы метаболитных ГАМК-рецепторов *GABBR1*, значимо ассоциированный с СОАС [11].

Учитывая перечисленные факты, указывающие на роль ГАМК в формировании СОАС, а также единичность ассоциативных исследований генов ГАМК-рецепторов при СОАС, целью работы было изучить возможную роль полиморфизмов некоторых генов ГАМКергической системы в формировании СОАС у больных БА, а также выяснить влияние данных полиморфизмов на клинико-функциональные особенности самой БА.

#### Материалы и методы исследования

В исследование было включено 184 больных БА, из них 34% мужчин и 66% женщин. Средний возраст лиц, включенных в исследование, составил  $39,7 \pm 0,86$  лет. Исследование было проведено с учетом требований Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправкой 2013 г., и нормативных документов «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденных Приказом № 200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Работа была одобрена локальным Комитетом по биоэтике. У всех больных было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. В структуре БА преобладали пациенты с персистирующим заболеванием легкой (38%) и средней (60%) тяжести, и преимущественно неконтролируемым течением (79%). Среди них 27% страдали ожирением, 29% отмечали курение в анамнезе.

С целью диагностики СОАС пациентам выполняли ночной кардиореспираторный мониторинг на аппарате SOMNOlab 2 (Weinmann, Германия). В качестве основных параметров оценивались индекс апноэ-гипопноэ (ИАГ), десатурация и продолжительность храпа. СОАС диагностировали при  $ИАГ \geq 5$ . Оценка функции внешнего дыхания проводилась методом спирометрии

на аппарате Easy one-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария) исходно, а также в динамике, после проведения бронходилатационной пробы с фенотеролом, с регистрацией значений объема форсированного выдоха на 1 сек (ОФВ<sub>1</sub>), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), отношения ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ, пиковой объемной скорости (ПОС), а также максимальной объемной скорости на уровне 50% (МОС<sub>50</sub>) и 75% ФЖЕЛ (МОС<sub>75</sub>). Положительной считалась реакция на бронхолитик при увеличении ОФВ<sub>1</sub> через 15 мин. после ингаляции более чем на 12% от исходного.

Для генотипирования были отобраны 15 полимор-

физмов, в том числе полиморфизмы генов ферментов, синтезирующих ГАМК – изоформ глутаматдекарбоксилазы 67 кДа (*GAD1*) и 65 кДа (*GAD2*), а также генов субъединиц метаботропных ГАМК-рецепторов (*GABBR1* и *GABBR2*). Отбор полиморфизмов осуществлялся на основании анализа результатов прежде проведенных ассоциативных исследований, а также предсказания функциональной значимости полиморфизмов регуляторных областей *in silico*. Перечень полиморфизмов представлен в таблице 1. Все полиморфизмы, кроме *GABBR2* rs35400353, являлись однонуклеотидными.

Таблица 1

Полиморфизмы, отобранные для анализа

Ген	Полиморфизм (идентификатор в базе NCBI)	Локализация
<i>GAD1</i>	rs1978340	5'-фланкирующий регион
	rs3749034	5'-нетранслируемая область
	rs12185692	Интрон
<i>GAD2</i>	rs2839668	5'-фланкирующий регион
	rs992990	Интрон
<i>GABBR1</i>	rs29220	Интрон
	rs29225	Экзон (синонимичный)
	rs29230	Экзон (синонимичный)
	rs2267633	3'- нетранслируемая область
<i>GABBR2</i>	rs35400353	5'- нетранслируемая область
	rs10985765	Экзон (миссенс, Thr869Ala)
	rs11789969	Интрон
	rs10121587	Интрон
	rs2900512	Интрон
	rs3750344	Экзон (синонимичный)

Генотипирование полиморфизмов (кроме *GABBR2* rs35400353) выполняли методом ЛАТЕ-ПЦР [14] с анализом плавления флуоресцентно меченных олигонуклеотидных зондов на амплификаторе ДТ-96 («ДНК-Технология», Россия). Инсерционно-делеционный полиморфизм *GABBR2* rs35400353 генотипировали путем непосредственной визуализации продуктов ПЦР после электрофоретического разделения в 8% полиакриламидном геле и окрашивания бромистым этидием (рис.).

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011) с использованием параметрических и непараметрических методов. Анализ количественных переменных с нормальным распределением проводили с использованием критерия t-Стьюдента. В случае распределения, отличного от нормального, использовали U критерий Манна-Уитни. Для ассоциативного анализа номинальных переменных использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона или точный критерий Фишера. Коррекция эффектов полиморфиз-

мов на известные конфаундеры проводилась с использованием математического аппарата логистической регрессии. Данные представлены в виде  $M \pm m$  для нормально распределенных переменных и Me (Q1; Q3) – для переменных с распределением, отличным от нормального. В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

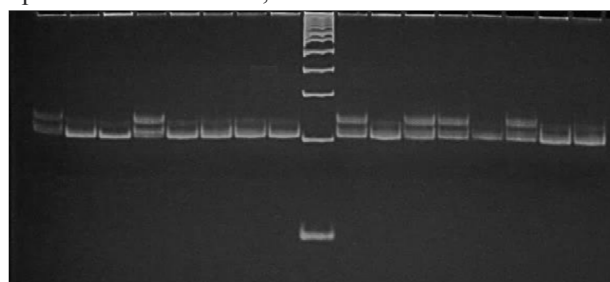


Рис. Генотипирование инсерционно-делеционного полиморфизма *GABBR2* rs35400353 методом электрофоретического разделения продуктов ПЦР в 8% полиакриламидном геле. Отчетливо видны гомозиготные по

делеции (одиночный продукт) и гетерозиготные («двойной» продукт) варианты. Гомозиготы по inserции не были обнаружены. В центре – маркер молекулярного веса ДНК 50 п.н.

**Результаты исследования и их обсуждение**

Среди обследованных больных БА СОАС был выявлен в 31% случаев. Сравнительный анализ подгрупп, сформированных по признаку наличия СОАС (табл. 2), подтвердил значимость известных факторов риска – пола, возраста и ИМТ – в развитии данной патологии. Среди больных СОАС также отмечался больший стаж курения, склонность к более высоким показателям функции внешнего дыхания, но более выраженная гиперреактивность дыхательных путей в ответ на ингаляционный β<sub>2</sub>-адреномиметик. СОАС не был значимо

взаимосвязан с тяжестью и контролем БА среди обследованных пациентов.

Частоты генотипов для всех полиморфизмов, кроме rs35400353 и rs10121587, находились в равновесии Харди-Вайнберга (табл. 3). Необходимо отметить, что для rs35400353 расчетные частоты генотипов в референсных популяциях проекта «1000 геномов» также не соответствуют равновесию, если предполагать отсутствие гомозигот по inserционному (I) аллелю. Причиной отклонения для rs10121587 являлась недостаточная частота гетерозигот на фоне увеличенной частоты гомозигот по A аллелю. Для сравнения, частоты генотипов данного полиморфизма в европейской популяции, зафиксированные в проекте «НарМар», составили: AA – 0,80, AG – 0,18, GG – 0,02.

**Таблица 2**

**Сравнительная клиничко-функциональная характеристика групп больных, в зависимости от наличия СОАС**

Показатели		Пациенты с СОАС (n=57)	Пациенты без СОАС (n=127)	p
Пол	мужчины, %	46	28	0,02
	женщины, %	54	72	
Возраст, лет		44,1±1,60	37,6±0,98	<0,001
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>		29,1±0,69	26,2 ±0,49	<0,001
Курение ≥10 пачка-лет, %		25	17	0,2
Тяжесть БА	легкая, %	39	38	0,4
	средняя, %	61	59	
	тяжелая, %	0	3	
Контроль АСТ, баллов		14,0 (7,0; 19,5)	14,0 (0; 19,0)	0,5
ОФВ <sub>1</sub> , %		93,1±2,57	87,9±1,52	0,07
ФЖЕЛ, %		101,8±2,37	99,7±1,45	0,4
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, %		90,6±1,67	86,8±1,14	0,06
ПОС, %		93,7±2,95	88,3±2,06	0,14
МОС <sub>50</sub> , %		71,8±4,26	63,1±2,44	0,06
МОС <sub>75</sub> , %		61,2±3,95	53,6±2,40	0,09
Положительная реакция на фенотерол, %		69	41	0,001

При ассоциативном анализе с наличием СОАС значимые результаты были получены для двух вариаций – полиморфизма rs3749034 гена *GADI* и rs35400353 гена *GABBR2*. В ходе предварительного анализа также было установлено, что полиморфизм rs3749034 достоверно взаимосвязан с полом. Генотип *CC* чаще встречался среди женщин (69% против 50%), тогда как носительство *T* аллеля (генотипы *CT+TT*) преобладало у мужчин (p=0,01). Без учета половых раз-

личий ассоциация rs3749034 с СОАС не была значимой, однако при анализе в подгруппах по половому признаку rs3749034 существенно влиял на наличие СОАС у мужчин (табл. 4). Ассоциации были значимы в общей и рецессивной (*CC* против *CT+TT*, ОШ 3,9 95%ДИ [1,36–11,67], p=0,01) моделях наследования. Среди лиц женского пола никаких тенденций к взаимосвязи не прослеживалось.

Таблица 3

Частоты генотипов и соответствие равновесию Харди-Вайнберга

Ген	Полиморфизм (идентификатор в базе NCBI)	Генотипы и их частота	Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга (p)
GAD1	rs1978340	CC – 0,42, CT – 0,46, TT – 0,12	>0,05
	rs3749034	CC – 0,62, CT – 0,35, TT – 0,03	>0,05
	rs12185692	CC – 0,43, AC – 0,46, AA – 0,11	>0,05
GAD2	rs2839668	AA – 0,86, AG – 0,13, GG – 0,01	>0,05
	rs992990	CC – 0,57, AC – 0,39, AA – 0,04	>0,05
GABBR1	rs29220	GG – 0,51, CG – 0,44, CC – 0,05	>0,05
	rs29225	TT – 0,84, CT – 0,15, CC – 0,01	>0,05
	rs29230	AA – 0,71, AG – 0,27, GG – 0,02	>0,05
	rs2267633	AA – 0,81, AG – 0,19, GG – 0	>0,05
GABBR2	rs35400353	DD – 0,69, ID – 0,31, II – 0	<0,05
	rs10985765	TT – 0,74, CT – 0,23, CC – 0,03	>0,05
	rs11789969	TT – 0,69, CT – 0,28, CC – 0,03	>0,05
	rs10121587	AA – 0,88, AG – 0,10, GG – 0,02	<0,05
	rs2900512	CC – 0,61, CT – 0,33, TT – 0,06	>0,05

Таблица 4

Частоты генотипов и аллелей полиморфизма GAD1 rs3749034 в зависимости от наличия СОАС среди мужчин

Генотипы/аллели	Частоты в группе больных БА с СОАС (%)	Частоты в группе больных БА без СОАС (%)	p
CC	69,2	36,1	0,02
CT	23,1	58,3	
TT	7,7	5,6	
C	80,8	65,3	0,06
T	19,2	34,7	

Медианное значение ИАГ было выше у мужчин, носителей генотипа CC, по сравнению с носителями генотипов CT+TT (5,1 [2,9; 7,2] против 1,5 [0,9; 5,0], p=0,001). При этом, полиморфизм не оказывал влияния на прочие параметры, такие как минимальная и средняя сатурация или длительность храпа.

При анализе в общей выборке полиморфизм GAD1 rs3749034 являлся независимым фактором, увеличивающим вероятность наличия СОАС, после коррекции по полу, возрасту, ИМТ и функции внешнего дыхания (ОФВ1) с помощью логистической регрессионной модели (скорректированное ОШ 1,9 95%ДИ [1,23–3,15], p=0,005).

Несмотря на ассоциацию с предрасположенностью к СОАС, генотип CC полиморфизма rs3749034 благоприятно влиял на функцию легких у больных БА – его носительство сопровождалось более высокими значениями показателей вентиляционной функции легких, по сравнению с носительством генотипов, содержащих T аллель (табл. 5). Также отмечалась тенденция взаимосвязи rs3749034 с реакцией на бронхолитик фенотерол – в случае отрицательной реакции носительство

генотипа CC отмечалось в 71% случаев, тогда как при положительной лишь в 59% (p=0,11). Тенденция сохранялась после проведения коррекции на наличие СОАС и исходный ОФВ<sub>1</sub> (p=0,1).

Полиморфизм rs35400353 гена GABBR2, представляющий трехнуклеотидную делецию (с.-161\_-159del-CGC), также проявлял тенденцию к взаимосвязи с СОАС среди женщин. Гомозиготный по делеции генотип (DD) чаще встречался у больных с СОАС (81% против 65%, p=0,1), тогда как гетерозиготный генотип являлся протективным. Вне зависимости от пола среди носителей генотипа DD отмечался более высокий ИАГ, по сравнению с носителями ID генотипа (2,8 [1,4; 5,3] против 2,1 [0,8; 4,6], p=0,06). Кроме этого, у носителей DD генотипа был ниже минимально зафиксированный уровень ночной сатурации (86,5 [83,0; 90,0]% против 88,5 [83,0; 91,0]%, p=0,12). После коррекции на пол, возраст, ИМТ и уровень вентиляционной функции легких с помощью логистической регрессионной модели эффект rs35400353 на формирование СОАС становился значимым (ОШ 1,5 95%ДИ [1,1–2,3], p=0,04).

Таблица 5

Эффект полиморфизма rs3749034 гена *GAD1* на показатели вентиляционной функции легких у больных БА

Показатель	Значение у носителей генотипа <i>CC</i>	Значение у носителей генотипов <i>CT+TT</i>	p
ОФВ <sub>1</sub> , %	92,1±1,63	85,4±2,17	0,01
ФЖЕЛ, %	102,1±1,56	97,6±2,02	0,08
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, %	89,8±1,14	85,1±1,63	0,01
ПОС, %	91,9±2,05	86,9±2,94	0,15
МОС <sub>50</sub> , %	69,9±2,91	59,2±2,94	0,01
МОС <sub>75</sub> , %	60,2±2,77	49,0±2,87	0,008

В отличие от rs3749034, полиморфизм rs35400353 не влиял на функцию легких, но оказывал эффект на реактивность дыхательных путей в ответ на бронхолитик фенотерол. При этом носительство *DD* генотипа чаще встречалось среди больных БА с положительной реакцией (73% против 61%,  $p=0,09$ ). Тенденция сохранялась после коррекции на наличие СОАС и исходное значение ОФВ<sub>1</sub> ( $p=0,1$ ).

Нам не удалось воспроизвести ассоциацию полиморфизма гена первой субъединицы метаболитических ГАМК-рецепторов rs29230 с СОАС, прежде выявленную в китайской популяции [11], даже при анализе в подгруппах в зависимости от пола и наличия ожирения. Вместе с тем, полученные данные в целом согласуются с выдвинутой гипотезой о негативной роли ГАМК в патогенезе СОАС. Так, полиморфизм *GAD1* rs3749034, расположенный в промоторном регионе гена глутаматдекарбоксилазы 67, осуществляющей биосинтез ГАМК в центральной нервной системе и дыхательных путях, ранее изучался на предмет взаимосвязи с шизофренией и паническим расстройством [10, 19]. При этом указанные нарушения достоверно чаще отмечались в случае носительства аллеля *T*, тогда как в нашем исследовании аллелем риска СОАС являлся аллель *C*. Учитывая, что шизофрения и паническое расстройство обычно сопровождаются угнетением ГАМКергической активности, можно предположить, что аллель *T* снижает экспрессию *GAD1* и выработку ГАМК. При носительстве более частого аллеля *C* выработка ГАМК, напротив, не страдает, чем и обусловлена более высокая распространенность СОАС среди больных с *CC* генотипом.

Об ассоциации СОАС с полиморфизмом rs35400353 гена *GABBR2* мы уже сообщали ранее [16]. В настоящем исследовании выборка пациентов была существенно увеличена, при этом прежде обнаруженная взаимосвязь rs35400353 с СОАС сохранилась. Как и в случае с полиморфизмом rs3749034, носительство частого гомозиготного (*DD*) генотипа служило фактором предрасположенности к СОАС, тогда как гетерозиготность сопровождалась снижением вероятности наличия заболевания. Расположение полиморфизма rs35400353 в промоторном регионе гена *GABBR2* и спрогнозированный *in silico* высокий регуляторный потенциал, отражающий влияние полиморфизма на связывание ДНК с факторами транскрипции,

свидетельствуют о возможном влиянии rs35400353 на экспрессию гена второй субъединицы метаболитических ГАМК-рецепторов. При этом в случае носительства инсерционного аллеля экспрессия, вероятно, снижается. На функциональную значимость rs35400353 также указывает полное отсутствие *II* гомозигот.

Другим интересным аспектом стал установленный эффект полиморфизмов rs3749034 и rs35400353 на функцию легких у больных БА. Несмотря на увеличение риска СОАС, генотип *CC* полиморфизма rs3749034 благоприятно влиял на показатели вентиляционной функции легких и реактивность дыхательных путей в ответ на бронхолитик. Этот результат хорошо согласуется с данными недавно проведенного исследования, в котором ингаляция аэрозоля ГАМК снижала гиперреактивность дыхательных путей на метахолин – один из ключевых признаков БА [6]. На этом фоне ассоциация гиперреактивности в ответ на бронхолитик с *DD* гомозиготным генотипом по полиморфизму rs35400353, при котором экспрессия метаболитических рецепторов ГАМК, предположительно, увеличена, может казаться противоречивой. Однако необходимо помнить, что влияние ГАМК в респираторном тракте опосредуется не только метаболитическими, но и ионотропными рецепторами, и в случае относительного преобладания экспрессии последних суммарный эффект ГАМК на функцию легких и гиперреактивность дыхательных путей действительно может быть скорее положительным. Вместе с тем, ранее было зафиксировано неблагоприятное влияние селективного агониста ГАМК-В рецепторов баклофена на функцию легких и гиперреактивность дыхательных путей. В одном из исследований однократный прием баклофена вызвал бронхоспазм у больного БА и появление гиперреактивности дыхательных путей на метахолин у молодой женщины, прежде отмечавшей лишь хрипы и одышку при физической нагрузке [4]. Проведенное впоследствии рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование подтвердило негативный эффект баклофена на индуцированную метахолином гиперреактивность [5]. Таким образом, возможно, что, несмотря на преимущественно бронходилатирующий эффект ГАМК в целом, специфическая активация метаболитических рецепторов действительно может сопровождаться бронхоконстрикцией. Данный феномен заслуживает

дальнейшего изучения, поскольку приведенное объяснение является в значительной степени механистическим и не рассматривает особенности локализации и функциональной роли различных типов рецепторов ГАМК в центральной нервной системе и респираторном тракте.

Таким образом, в ходе настоящего исследования было подтверждено вероятное участие ГАМКергических механизмов в патогенезе СОАС и впервые установлена важная роль полиморфизмов *GAD1* rs3749034 и *GABBR2* rs35400353 в формировании СОАС у больных БА. После дополнительной верификации, выявленные генетические ассоциации могут быть использованы для индивидуального прогнозирования риска СОАС, а также служить отправной точкой для дальнейшего исследования экспрессии рецепторов ГАМК в респираторном тракте и разработки персонализированных подходов в терапии с использованием ГАМК у больных БА.

*Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-315-00108).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Al Lawati N.M., Patel S.R., Ayas N.T. Epidemiology, risk factors, and consequences of obstructive sleep apnea and short sleep duration // *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2009. Vol.51, №4. P.285–293. doi: 10.1016/j.pcad.2008.08.001
2. Alkhalil M., Schulman E.S., Getsy J. Obstructive sleep apnea syndrome and asthma: the role of continuous positive airway pressure treatment // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2008. Vol.101, №4. P.350–357. doi: 10.1016/S1081-1206(10)60309-2
3. de Paula L.K., Alvim R.O., Pedrosa R.P., Horimoto A.R., Krieger J.E., Oliveira C.M., Pereira A.C., Lorenzi-Filho G. Heritability of OSA in a rural population // *Chest.* 2016. Vol.149, №1. P.92–97. doi: 10.1378/chest.15-0843
4. Dicipinigaitis P.V., Nierman D.M., Miller A. Baclofen-induced bronchoconstriction // *Ann. Pharmacother.* 1993. Vol.27, №7-8. P.883–884.
5. Dicipinigaitis P.V. Effect of the GABA-agonist baclofen on bronchial responsiveness in asthmatics // *Pulm. Pharmacol. Ther.* 1999. Vol.12, №4. P.257–260.
6. Dimić D., Timotijević L., Nikolic I., Zdravkovic A., Nikcevic L., Dimic N., Simeunovic I. Effects of GABA on lung function in asthmatics after methacholine inhalation // *Eur. Respir. J.* 2017. Vol.50. PA3574. doi: 10.1183/1393003.congress-2017.PA3574
7. Finnimore A.J., Roebuck M., Sajkov D., McEvoy R.D. The effects of the GABA agonist, baclofen, on sleep and breathing // *Eur. Respir. J.* 1995. Vol.8, №2. P.230–234.
8. Kheirandish-Gozal L., McManus C.J.T., Kellermann G.H., Samiei A., Gozal D. Urinary neurotransmitters are selectively altered in children with obstructive sleep apnea and predict cognitive morbidity // *Chest.* 2013. Vol.143, №6. P.1576–1583. doi: 10.1378/chest.12-2606
9. Kong D.L., Qin Z., Shen H., Jin H.Y., Wang W., Wang Z.F. Association of obstructive sleep apnea with asthma: a meta-analysis // *Sci. Rep.* 2017. Vol.7, №1. P.4088. doi: 10.1038/s41598-017-04446-6

10. Lett T.A., Kennedy J.L., Radhu N., Dominguez L.G., Chakravarty M.M., Nazeri A., Farzan F., Walter H., Heinz A., Mulsant B.H., Daskalakis Z.J., Voineskos A.N. Prefrontal white matter structure mediates the influence of GAD1 on working memory // *Neuropsychopharmacology.* 2016. Vol.41, №9. P.2224–2231. doi: 10.1038/npp.2016.14

11. Li Z., Tang T., Du J., Wu W., Zhou X., Qin G. Association between single nucleotide polymorphisms in gamma-aminobutyric acid B receptor, insulin receptor substrate-1, and hypocretin neuropeptide precursor genes and susceptibility to obstructive sleep apnea hypopnea syndrome in a Chinese Han population // *Med. Princ. Pract.* 2016. Vol.25, №6. P.517–524.

12. Piovezan R.D., Kase C., Moizinho R., Tufik S., Poayres D. Gabapentin acutely increases the apnea-hypopnea index in older men: data from a randomized, double-blind, placebo-controlled study // *J. Sleep Res.* 2017. Vol.26, №2. P.166–170. doi: 10.1111/jsr.12495

13. Redline S., Tishler P.V. The genetics of sleep apnea // *Sleep Med. Rev.* 2000. Vol.4, №6. P.583–602.

14. Sanchez J.A., Pierce K.E., Rice J.E., Wanh L.J. Linear-after-the-exponential (LATE)-PCR: an advanced method of asymmetric PCR and its uses in quantitative real-time analysis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol.101, №7. P.1933–1938.

15. Senaratna C.V., Perret J.L., Lodge C.J., Lowe A.J., Campbell B.E., Matheson M.C., Hamilton G.S., Dharmage S.C. Prevalence of obstructive sleep apnea in the general population: A systematic review // *Sleep Med. Rev.* 2017. Vol.34. P.70–81. doi: 10.1016/j.smrv.2016.07.002

16. Sheludko E., Naumov D., Kotova O., Perelman J., Kolosov V. Evidence of association between GABBR2 gene polymorphism and obstructive sleep apnea syndrome in asthma patients // *Respirology.* 2017. Vol.22, Suppl.3. P.37.

17. Taillé C., Rouvel-Talleg A., Stoica M., Danel C., Dehoux M., Marin-Esteban V., Pretolani M., Aubier M., d'Ortho M.P. Obstructive sleep apnoea modulates airway inflammation and remodelling in severe asthma // *PLoS One.* 2016. Vol.11, №3. e0150042. doi: 10.1371/journal.pone.0150042

18. Teodorescu M., Polomis D.A., Hall S.V., Teodorescu M.C., Gangnon R.E., Peterson A.G., Xie A., Sorkness C.A., Jarjour N.N. Association of obstructive sleep apnea risk with asthma control in adults // *Chest.* 2010. Vol.138, №3. P.543–550. doi: 10.1378/chest.09-3066

19. Weber H., Scholz C.J., Domschke K., Baumann C., Klauke B., Jacob C.P., Maier W., Fritze J., Bandelow B., Zwanzger P.M., Lang T., Fehm L., Ströhle A., Hamm A., Gerlach A.L., Alpers G.W., Kircher T., Wittchen H.U., Arolt V., Pauli P., Deckert J., Reif A. Gender differences in associations of glutamate decarboxylase 1 gene (*GAD1*) variants with panic disorder // *PLoS One.* 2012. Vol.7, №5. e37651. doi: 10.1371/journal.pone.0037651

#### REFERENCES

1. Al Lawati N.M., Patel S.R., Ayas N.T. Epidemiology, risk factors, and consequences of obstructive sleep apnea and short sleep duration. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2009; 51(4):285–293. doi: 10.1016/j.pcad.2008.08.001

2. Alkhalil M., Schulman E.S., Getsy J. Obstructive sleep apnea syndrome and asthma: the role of continuous positive airway pressure treatment. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2008; 101(4):350–357. doi: 10.1016/S1081-1206(10)60309-2
3. de Paula L.K., Alvim R.O., Pedrosa R.P., Horimoto A.R., Krieger J.E., Oliveira C.M., Pereira A.C., Lorenzi-Filho G. Heritability of OSA in a rural population. *Chest* 2016; 149(1):92–97. doi: 10.1378/chest.15-0843
4. Dicipinigaitis P.V., Nierman D.M., Miller A. Baclofen-induced bronchoconstriction. *Ann. Pharmacother.* 1993; 27(7-8):883–884.
5. Dicipinigaitis P.V. Effect of the GABA-agonist baclofen on bronchial responsiveness in asthmatics. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 1999; 12(4):257–260.
6. Dimić D., Timotijevic L., Nikolic I., Zdravkovic A., Nikcevic L., Dimic N., Simeunovic I. Effects of GABA on lung function in asthmatics after methacholine inhalation. *Eur. Respir. J.* 2017; 50:PA3574. doi: 10.1183/1393003.congress-2017.PA3574
7. Finnimore A.J., Roebuck M., Sajkov D., McEvoy R.D. The effects of the GABA agonist, baclofen, on sleep and breathing. *Eur. Respir. J.* 1995; 8(2):230–234.
8. Kheirandish-Gozal L., McManus C.J.T., Kellermann G.H., Samiei A., Gozal D. Urinary neurotransmitters are selectively altered in children with obstructive sleep apnea and predict cognitive morbidity. *Chest* 2013; 143(6):1576–1583. doi: 10.1378/chest.12-2606
9. Kong D.L., Qin Z., Shen H., Jin H.Y., Wang W., Wang Z.F. Association of obstructive sleep apnea with asthma: a meta-analysis. *Sci. Rep.* 2017; 7(1):4088. doi: 10.1038/s41598-017-04446-6
10. Lett T.A., Kennedy J.L., Radhu N., Dominguez L.G., Chakravarty M.M., Nazeri A., Farzan F., Walter H., Heinz A., Mulsant B.H., Daskalakis Z.J., Voineskos A.N. Prefrontal white matter structure mediates the influence of GAD1 on working memory. *Neuropsychopharmacology* 2016; 41(9):2224–2231. doi: 10.1038/npp.2016.14
11. Li Z., Tang T., Du J., Wu W., Zhou X., Qin G. Association between single nucleotide polymorphisms in gamma-aminobutyric acid B receptor, insulin receptor substrate-1, and hypocretin neuropeptide precursor genes and susceptibility to obstructive sleep apnea hypopnea syndrome in a Chinese Han population. *Med. Princ. Pract.* 2016; 25(6):517–524.
12. Piovezan R.D., Kase C., Moizinho R., Tufik S., Po-yares D. Gabapentin acutely increases the apnea-hypopnea index in older men: data from a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J. Sleep Res.* 2017; 26(2):166–170. doi: 10.1111/jsr.12495
13. Redline S., Tishler P.V. The genetics of sleep apnea. *Sleep Med. Rev.* 2000; 4(6):583–602.
14. Sanchez J.A., Pierce K.E., Rice J.E., Wanh L.J. Linear-after-the-exponential (LATE)-PCR: an advanced method of asymmetric PCR and its uses in quantitative real-time analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101(7):1933–1938.
15. Senaratna C.V., Perret J.L., Lodge C.J., Lowe A.J., Campbell B.E., Matheson M.C., Hamilton G.S., Dharmage S.C. Prevalence of obstructive sleep apnea in the general population: A systematic review. *Sleep Med. Rev.* 2017; 34:70–81. doi: 10.1016/j.smrv.2016.07.002
16. Sheludko E., Naumov D., Kotova O., Perelman J., Kolosov V. Evidence of association between GABBR2 gene polymorphism and obstructive sleep apnea syndrome in asthma patients. *Respirology* 2017; 22(Suppl.3):37.
17. Taillé C., Rouvel-Talleg C., Stoica M., Danel C., Dehoux M., Marin-Esteban V., Pretolani M., Aubier M., d'Ortho M.P. Obstructive sleep apnoea modulates airway inflammation and remodelling in severe asthma. *PLoS One* 2016; 11(3):e0150042. doi: 10.1371/journal.pone.0150042
18. Teodorescu M., Polomis D.A., Hall S.V., Teodorescu M.C., Gangnon R.E., Peterson A.G., Xie A., Sorkness C.A., Jarjour N.N. Association of obstructive sleep apnea risk with asthma control in adults. *Chest* 2010; 138(3):543–550. doi: 10.1378/chest.09-3066
19. Weber H., Scholz C.J., Domschke K., Baumann C., Klauke B., Jacob C.P., Maier W., Fritze J., Bandelow B., Zwanzger P.M., Lang T., Fehm L., Ströhle A., Hamm A., Gerlach A.L., Alpers G.W., Kircher T., Wittchen H.U., Arolt V., Pauli P., Deckert J., Reif A. Gender differences in associations of glutamate decarboxylase 1 gene (GAD1) variants with panic disorder. *PLoS One* 2012; 7(5):e37651. doi: 10.1371/journal.pone.0037651

Поступила 14.02.2019

Контактная информация

Елизавета Григорьевна Шелудько,

младший научный сотрудник лаборатории молекулярных и трансляционных исследований,

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,

675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: liza.sheludko@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Elizaveta G. Sheludko

MD, Junior Staff Scientist of Laboratory of Molecular and Translational Research,

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration,

22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: liza.sheludko@mail.ru