

УДК 616.233.248:612.398:612.6.05

©Коллектив авторов

## ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВОВЛЕЧЕННОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В РАЗВИТИЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

*А.В. Полоников\*, В.П. Иванов, А.Д. Богомазов, М.А. Солодилова*

Курский государственный медицинский университет,  
305041, Курск, ул. Карла Маркса, 3; тел./факс: 4712-588147, +79102731349;  
эл. почта: polonikov@rambler.ru, bogomazov71@mail.ru

Проанализированы и систематизированы данные мировой литературы последних лет по генетико-биохимическим механизмам вовлечённости ферментов антиоксидантной системы в этиопатогенез бронхиальной астмы. Показано, что в основе развития бронхиальной астмы лежат генетические детерминированные отклонения в функционировании различных антиоксидантных ферментов, связанные с наличием функциональных полиморфизмов в структуре их генов. На фенотипическом уровне данные отклонения проявляются системными нарушениями баланса окислительных и антиокислительных реакций со смещением редокс-гомеостаза в сторону усиления свободнорадикального окисления и формирования окислительного стресса в дыхательных путях – ключевого звена патогенеза бронхиальной астмы.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, этиология и патогенез, биохимические нарушения, окислительный стресс, антиоксидантные ферменты, генетический полиморфизм.

DOI: 10.18097/PBMC20156104427

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из наиболее древних и сложноустроенных биологических систем у человека является система редокс-гомеостаза, основу которой составляют ферменты антиоксидантной защиты, контролирующие направленность и интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СРО) в органах и тканях и обеспечивающие приспособление организма к изменяющимся условиям внешней среды [1, 2]. Субстратами ферментов антиоксидантной системы (АОС) являются активные формы кислорода (АФК), которые при физиологических концентрациях регулируют важнейшие биологические процессы в клетках – митогенную активность, инициацию и реализацию апоптоза, клеточную адгезию, модуляцию иммунного ответа, антибактериальную защиту, воспалительные реакции, сигнальную трансдукцию, сокращение и расслабление гладкомышечных клеток [3, 4]. Однако при избыточных концентрациях АФК становятся токсичными для биологических структур, приводя к окислительной модификации и инаktivации ферментов и белков, разрывам молекулы ДНК, повреждению клеточных мембран посредством активации перекисного окисления липидов (ПОЛ)

и гликозилирования белков [4]. Когда процессы образования и обезвреживания АФК выходят из-под контроля системы редокс-гомеостаза, нарушается баланс между интенсивностью окислительных и антиоксидантных реакций, в результате чего накапливаются продукты СРО, индуцируя окислительный стресс (ОС) и формирование патологических состояний.

Гены ферментов антиоксидантной системы, будучи полиморфными по своей структуре, определяют индивидуальные особенности людей в отношении функционирования редокс-гомеостаза и его ответной реакции на ОС. В рамках настоящего обзора впервые систематизированы результаты биомедицинских исследований по изучению вовлечённости ферментов антиоксидантной системы в молекулярные механизмы развития распространённого и социально значимого заболевания – бронхиальной астмы.

### 1. ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Бронхиальная астма (БА) представляет собой тяжёлое хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей многофакторной

\* - адресат для переписки

природы, ключевым звеном развития которого является обструкция бронхов, проявляющаяся повторяющимися эпизодами свистящих хрипов, одышки, чувства заложенности в груди и кашля. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза БА являются предметом интенсивных зарубежных и отечественных исследований на протяжении более чем 20 лет. Согласно базе данных HuGENet (<http://64.29.163.162:8080/HuGENavigator>), только за последние 10 лет по генетике БА опубликовано 1640 статей в журналах биомедицинского профиля. Среди них 1590 исследований по анализу генетических ассоциаций, 327 работ по оценке генно-средовых взаимодействий, 89 работ по исследованиям межгенных взаимодействий и 171 работа по фармакогеномике БА. Уже опубликованы результаты 82 мета-анализов и 76 полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) БА. Наибольшее внимание исследователей привлечено к поиску генов, продукты которых задействованы в регуляции иммуновоспалительных процессов: генов врождённого иммунного ответа, регуляции местного иммунитета, дифференцировки и активности Т-хелперов 2 типа, а также генов, обеспечивающих функционирование клеток эпителия бронхов и вовлечённых в ремоделирование дыхательных путей и гиперреактивность бронхов [5]. В частности, методом позиционного клонирования идентифицирован локус 17q21, включающий гены *ORMDL3* и *GSDML*, которые показали высокую степень взаимосвязи с развитием бронхиальной астмы детского возраста [6]. Оценка вариабельности ДНК в участке 17q21 и экспрессионного профиля генов в лимфобластоидных клетках детей с БА также выявила сильную взаимосвязь ДНК-полиморфизмов с уровнем экспрессии гена *ORMDL3* [6]. По результатам многочисленных исследований по анализу сцепления был предложен список наиболее значимых полиморфных генов предрасположенности к БА, включающий гены *IL4*, *IL4RA*, *IL13*, *ADRB2*, *TNF*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1*, *FCER1B*, *CD14* и *ADAM33* [7]. Однако, за редким исключением, подавляющее большинство ассоциаций этих генов с БА не подтвердились ни в одном из крупномасштабных исследований (GWAS), выполненных международными консорциумами Decode [8], GABRIEL [9], EBA [10] и APCAT [11]. Тем не менее, мета-анализ результатов полногеномных исследований позволил выявить достаточно сильные ассоциации БА с полиморфизмами генов цитокинов: интерлейкина-33 (*IL33*), стромального лимфопоэтина тимуса (TSLP), гена *IL1RL1*, кодирующего рецептор к *IL33* (*ST2*), а также генов *ORMDL3/GSDML* (локус 17q21), *SMAD3*, *RORA* и *HLA-DQ* [12]. Фактически оказалось, что локусы *IL33* и его рецептора (*ST2*) являются единственными генами, которые показали статистически значимые ассоциации с БА в большинстве выполненных генетических исследований, несмотря на то, что конкретная роль данных генов в патогенезе болезни по-прежнему остаётся не выясненной [7]. Причинами несогласованности результатов

генетических исследований могут являться как этническая компонента подверженности БА (особенности гаплотипической структуры и разные частоты аллелей генов в различных популяциях), так и компонента внешней среды (межпопуляционные различия в структуре аллергической сенсибилизации, микробном и гельминтном окружении, во влияниях экологических факторов химической природы) [12-14]. Следует отметить, что результаты полногеномных исследований ограничены обнаружением выраженных ассоциаций незначительного числа генетических вариантов с БА, а отсутствие концептуального подхода к поиску патогенетически значимых локусов в геноме зачастую не позволяет экстраполировать выявленные ассоциации ДНК-маркеров на этиологию и патогенез болезни [15, 16]. К сказанному следует добавить, что доля наследуемости, объясняемая генами, выявленными с помощью полногеномных ассоциативных исследований, крайне мала, что дало основание охарактеризовать данный феномен как "упущенная наследуемость" [17]. Это может означать, что гены, контролирующие иммунопатологические стороны патогенеза бронхиальной астмы, не объясняют в полной мере причины и молекулярные механизмы развития заболевания в современных популяциях. Это диктует необходимость формулировки и проверки новых гипотез патогенеза болезни, с учётом накопленных мировым научным сообществом данных экспериментальных и клинических исследований.

## 2. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Литературные данные последних лет дают основание полагать, что в основе развития бронхиальной астмы существенная роль принадлежит молекулярно-биохимическим нарушениям в системе редокс-гомеостаза, характеризующимся снижением антиоксидантного статуса, повышением активности процессов СРО и развитием окислительного стресса одного из ключевых звеньев патогенеза заболевания [18, 19]. Окислительный стресс, индуцированный в бронхолегочной системе под влиянием факторов среды прооксидантной природы (возбудители инфекций, аллергены растительного и животного происхождения, поллютанты атмосферного воздуха, табачный дым и др.) на фоне пониженной активности ферментов АОС и избыточной генерации АФК, имеет не только этиопатогенетическую связь с БА, но и приводит к вторичным патологическим изменениям дыхательных путей и лёгочной ткани на фоне уже сформировавшегося заболевания [18]. Так, многочисленными биохимическими исследованиями установлено, что у больных БА (как в пределах бронхолегочной системы, так и в системном кровотоке) происходит существенный сдвиг баланса между продукцией оксидантов и содержанием антиоксидантов [19, 20], что проявляется избыточной активностью

окислительных ферментов и избыточной генерацией свободных радикалов, а также существенным снижением активности и/или содержания ферментов АОС. Изменения содержания окислителей, антиоксидантов и маркеров окислительного стресса обнаружены как в бронхоальвеолярной жидкости, мокроте, сыворотке, плазме крови и клетках дыхательных путей, так и в конденсате выдыхаемого воздуха, тем самым, свидетельствуя о системности нарушений редокс-регуляции и их связи с патогенезом заболевания. В частности, в различных биологических средах у больных БА установлены высокие концентрации АФК – гидроксильного и супероксидного анионного радикала [21], оксида азота [22] и гидроперекисей [23]. Кроме того у астматиков выявлено снижение общего антиоксидантного статуса плазмы крови [24] и активности ферментов АОС, таких как пероксидаза [25] и супероксиддисмутаза [21]. Из других биохимических нарушений, обнаруженных у больных БА, следует отметить усиление ПОЛ, сопряженное с увеличением продукции провоспалительных изопростанов – стереоизомеров простагландинов, которые играют важную роль в патогенезе болезни [26, 27].

Известно, что антиоксидантная система включает в себя большое количество звеньев регуляции, но генетически детерминированными являются именно антиоксидантные ферменты, характеризующиеся межиндивидуальными различиями в активности и экспрессии благодаря наличию в структуре их генов функционально неравноценных полиморфных аллелей [28]. Наличие ДНК-полиморфизмов генов ферментов АОС делает каждого человека уникальным в отношении регуляции антиоксидантного статуса и степени активности СРО, фактически определяя индивидуальную устойчивость или чувствительность к повреждающему действию оксидантов окружающей среды и развитию патологических процессов таких как БА [29].

### 3. ФЕРМЕНТЫ, ГЕНЕРИРУЮЩИЕ СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ, И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Практически любая оксидантная реакция сопровождается образованием АФК, таких как супероксидный анионный радикал ( $O_2^-$ ), пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильный радикал ( $\cdot OH$ ), оксид азота ( $\cdot NO$ ), гипохлорная кислота ( $HOCl$ ), пероксильный радикал ( $ROO\cdot$ ) и гидропероксильный радикал ( $HOO\cdot$ ) [30]. Основными источниками АФК в лёгких и бронхиальном дереве являются нейтрофилы, эозинофилы, альвеолярные макрофаги, эпителиальные клетки бронхов и клетки эндотелия [31]. Примечательно, что генетические дефекты ферментов генерации свободных радикалов – прооксидантных оксидаз и нарушения, связанные с ингибированием продукции АФК, способствуют снижению неспецифического иммунного ответа и формированию хронических инфекционно-

воспалительных процессов в лёгких [4]. При избыточном образовании АФК оксидазами может происходить истощение резервов антиоксидантной защиты, что, в конечном счёте, приводит к развитию окислительного повреждения различных типов клеток бронхолёгочной системы [18]. Источниками образования свободных радикалов в тканях лёгких и дыхательных путей являются ферменты прооксидантного действия, такие как NADPH-оксидаза фагоцитирующих клеток, ксантиноксидазы клеток эндотелия, митохондриальная цитохром *c* оксидаза и микросомальные монооксигеназы.

#### 3.1. NADPH оксидаза

NADPH-оксидаза представляет собой мембрано-связанный фермент, который состоит из двух пронизывающих мембрану субъединиц ( $gp91^{phox}$  и  $gp22^{phox}$ ), трёх цитозольных субъединиц ( $p40^{phox}$ ,  $p47^{phox}$  и  $p67^{phox}$ ), а также белка  $p21^{ras}$ , связывающего GTP [32]. Белки  $gp22^{phox}$  ( $\alpha$ -субъединица цитохрома *b*, CYBA) и  $gp91^{phox}$  ( $\beta$ -субъединица цитохрома *b*, CYBB) связывают FAD и образуют трансмембранный цитохром  $b_{558}$  [33]. Примечательно, что  $\alpha$ -субъединица фермента (CYBA) определяет активность NADPH-оксидазы в отношении генерации супероксидного анион-радикала [34]. В  $\alpha$ -субъединице NADPH-оксидазы идентифицировано несколько функциональных полиморфизмов – нуклеотидная замена 242C>T (rs4673) в кодирующей части 4 экзона, сопровождающаяся аминокислотной заменой His72Tyr в области связывания белка с гемом, трансверсия 640A>G (rs1049255) в 3'-нетранслируемой области гена CYBA, а также и промоторный полиморфизм -930A>G (rs9932581), влияющий на транскрипционную активность гена [35]. Предполагается, что полиморфизмы 242C>T и 640A>G в гене CYBA оказывают влияние на степень связывания между белками  $p22^{phox}$  и  $gp91^{phox}$ , тем самым, изменяя активность NADPH-оксидазы в отношении генерации АФК [36]. Проведенное нами исследование у русских жителей Курской области позволило установить, что гомозиготный генотип 640AA CYBA ассоциирован с повышенным риском развития аллергической формы БА [37]. В другой нашей работе [38] мы обнаружили связь промоторного полиморфизма -930A>G с развитием неаллергической формы БА у мужчин. Примечательно, что повышенный риск развития болезни у носителей генотипа -930GG наблюдался у курильщиков и у лиц при недостаточном употреблении свежих овощей и фруктов – источников природных антиоксидантов, тем самым демонстрируя сопряжённость влияния гена CYBA и средовых факторов про- и антиоксидантного действия на формирование болезни. Связь полиморфизмов гена CYBA была подтверждена в чешской популяции [39]. В частности, авторами было обнаружено, что полиморфизм 640A>G и гаплотип -930G/242T/640A были связаны с повышенным риском развития БА и сенсibilизацией 2-мя видами аллергенов.



## 3.2. NADPH-дегидрогеназа, хинон 1 (NQO1)

NQO1 представляет собой NADP-оксидоредуктазу – фермент, катализирующий превращение потенциально токсичных хинонов в стабильные гидрохиноны [40]. Кроме того, фермент способен активировать некоторые хиноны в гидрохиноны, индуцируя аутоокисление биомолекул посредством гиперпродукции свободных радикалов [40]. Экспрессия гена *NQO1* индуцируется под действием окислительного стресса вследствие активации сигнального каскада арилгидрокарбонового рецептора полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ), содержащимися в атмосферном смоге и табачном дыме. В гене *NQO1* идентифицировано более 20 частых однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) [41], причём наиболее исследованными в отношении функциональной значимости являются нуклеотидные замены, приводящие к аминокислотным заменам P187S (rs1800566) и R139W (rs4986998) в 6 и 4 экзонах гена, соответственно. Гетерозиготы 187PS имеют в 3 раза более низкую ферментативную активность, чем гомозиготы дикого типа 187PP, тогда как у гомозигот 187SS фермент полностью инактивируется [42]. Проводилось несколько исследований, в рамках которых изучалась связь полиморфизмов гена *NQO1* с развитием БА и гиперреактивности бронхов в различных популяциях мира – мексиканской [43], южноафриканской [44], тайваньской [45], канадской [46] и в нескольких популяциях Европы [47]. Однако ассоциация полиморфных вариантов гена *NQO1* с предрасположенностью к БА или развитием гиперреактивности бронхов была установлена в работах [45] и [47]. Ассоциация полиморфизма P187S гена *NQO1* с риском развития аллергической формы БА у женщин была обнаружена нами и в русской популяции [48]. Говоря о вовлечённости данного гена в патогенез БА, следует отметить, что активация экспрессии или активности NQO1 сопровождается индукцией транскрипционного фактора Nrf2, который способен блокировать продукцию иммуноглобулина Е (IgE) в В-лимфоцитах [49]. По всей видимости, низкая активность NQO1 (у носителей генотипа 187SS), с одной стороны, усиливает выработку IgE В-клетками, а с другой – накопление хиноновых радикалов может индуцировать ОС в лёгких и дыхательных путях, и тем самым, способствовать развитию бронхиальной астмы.

## 3.3. Миелопероксидаза (МРО)

МРО представляет собой лизосомальный фермент, катализирующий реакцию перехода пероксида водорода в гипохлорную кислоту – высокореактивный и токсичный оксидант, способный окислять биомолекулы со значительно большей скоростью, чем пероксид водорода [4, 50]. Основной биологической функцией МРО является обеспечение клеточного иммунитета посредством выработки гипохлорной кислоты, обладающей выраженными

бактерицидными свойствами в отношении широкого спектра микроорганизмов [51]. МРО состоит из двух идентичных димеров, соединённых между собой дисульфидной связью, каждый из которых содержит гликозилированную тяжёлую  $\alpha$ -субъединицу с ковалентно связанным гемом и негликозилированную лёгкую  $\beta$ -субъединицу [50]. Наиболее частым полиморфизмом является нуклеотидная замена -463G>A (rs2333227) в промоторной области гена *МРО*, сопровождающаяся снижением его экспрессии [52]. В русской популяции нами обнаружена связь между носительством генотипа дикого типа -463GG гена *МРО* и риском развития БА [53]. Двумя независимыми исследованиями подтверждается потенциальная вовлечённость гена *МРО* в патогенез бронхиальной астмы: обнаружена сопряжённость влияния полиморфизма -463G>A гена *МРО* на риск развития БА с другими генами АОС – *NQO1* и *CAT* [54, 55]. Полиморфизм 463G>A располагается в гормон-связывающей области промотора гена *МРО* и оказывает влияние на его экспрессию вследствие потери участка для связывания с транскрипционным фактором SP1 [56]. Установлено, что аллель -463G связана с более чем 25-кратным увеличением уровня транскрипции гена *МРО*, чем аллель -463A [56], а у носителей генотипа -463GG (в сравнении с носителями генотипов -463GA и -463AA) в бронхоальвеолярной жидкости имеет место повышенная активность миелопероксидазы [57]. Примечательно отметить, что у больных БА в нейтрофилах имеет место повышенный уровень МРО [58], который отрицательно коррелировал с максимальным значением объёма сформированного выдоха за 1 секунду (FEV1) [59] – главным показателем обструкции бронхов у больных бронхиальной астмой.

## 3.4. Флаavin-содержащая монооксигеназа 3 типа (FMO3)

FMO3 – фермент, катализирующий NADPH-зависимую оксигенацию ксенобиотиков с азот-, серо-, селен- и фосфор-содержащими группами, а также тиокарбамильные соединения, переводя их в водорастворимые и менее токсичные метаболиты [60]. С одной стороны, являясь типичной монооксигеназой, этот микросомальный фермент осуществляет окисление гетероатомных нуклеофильных соединений, обладающих окислительными свойствами [60], с другой стороны, FMO3 обладает прооксидантными свойствами, превращая флаavin в его дигидроформу и восстанавливая кислород до пероксида водорода. Хотя точная биологическая роль флаavin-содержащих монооксигеназ остается не совсем понятной, показано, что фермент способен окислять многие биологические тиолы, такие как цистеин, цистеамин и глутатион, играя роль модулятора тиол-дисульфидного редокс-потенциала клеток [61]. В гене *FMO3* обнаружено 16 частых полиморфизмов, однако наиболее хорошо изученным и функционально значимым является ОНП E158K (rs2266782),

расположенный в 4 экзоне гена. Нами не установлено связи данного полиморфизма с риском развития БА в русской популяции [62].

#### 4. РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ, МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ СУПЕРОКСИДНЫЕ РАДИКАЛЫ И ГИДРОПЕРЕКИСИ, В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Супероксидные анионные радикалы не только обладают повреждающим действием на эпителиальные клетки дыхательных путей, но и способны быстро вступать в реакцию с NO-радикалом с образованием не менее токсичного пероксинитрита [4]. В детоксикации супероксидных анионных радикалов участвуют супероксиддисмутазы, каталаза и глутатионпероксидазы.

##### 4.1. Супероксиддисмутаза 1 типа (SOD1)

SOD1 представляет собой основной антиоксидантный фермент, катализирующий превращение супероксидного анионного радикала в молекулярный кислород и пероксид водорода [63]. Фермент представляет собой металлопротеин с молекулярной массой 32-33 кДа и состоит из двух субъединиц, каждая из которых связывает по одному атому меди и цинка. Ген *SOD1* содержит множество ОНП, среди которых наиболее исследованным является нуклеотидная замена +35A>C (rs2234694), снижающая активность фермента [64]. У больных БА установлено снижение активности супероксиддисмутазы в крови [65], однако в литературе есть только одно генетическое исследование в финской популяции [66], в котором не обнаружена связь полиморфизма гена *SOD1* с развитием заболевания.

##### 4.2. Супероксиддисмутаза 2 типа (SOD2)

SOD2 – митохондриальный фермент, катализирующий реакцию взаимодействия двух молекул супероксидного анионного радикала с водой с образованием пероксида водорода и молекулярного кислорода. SOD2 состоит из 4 субъединиц с молекулярной массой 20 кДа. В гене *SOD2* обнаружена замена 47C>T, характеризующаяся аминокислотной заменой V16A (rs4880) в сигнальной части пептида [67]. Фермент, кодируемый данным вариантом, характеризуется снижением активности на 30-40%. Хотя при БА установлено снижение активности SOD2 [68], нами не было обнаружено ассоциации полиморфизма V16A гена *SOD2* с риском развития заболевания [62].

##### 4.3. Супероксиддисмутаза 3 типа (SOD3)

SOD3 – антиоксидантный фермент, катализирующий реакцию дисмутации супероксидных анионных радикалов, генерированных NADPH-зависимой оксидазной системой нейтрофилов [4]. Фермент представляет собой тетрамерный гликопротеин с молекулярной массой около 30 кДа.

В гене *SOD3* имеются множество полиморфизмов, однако наиболее частыми являются три ОНП: A40T, F131C и R213G. Исследования в китайской и финской популяциях не выявили взаимосвязи полиморфизмов гена *SOD3* с развитием БА [66, 69]. В исследованной нами русской популяции не было обнаружено ассоциации полиморфизма A40T гена *SOD3* с риском развития БА [62].

##### 4.4. Каталаза (CAT)

CAT представляет собой пероксисомный фермент, катализирующий нейтрализацию пероксида водорода до молекулярного кислорода и воды [4]. Фермент является хромопротеином с молекулярной массой 24 кДа, состоящий из четырёх субъединиц. Совместно с глутатионпероксидазой и супероксиддисмутазой каталаза защищает клетки от ОС, вызванного избыточным накоплением гидропероксидов. Предполагается, что каталаза не имеет высокого сродства к H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и не может эффективно обезвреживать это соединение при его низких концентрациях в цитозоле. Напротив, в пероксисомах, где концентрация H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> наиболее высока, каталаза активно разрушает его. Известно, что индукция каталазы является первым звеном ответной реакции клеток на окислительные стимулы внешней среды [70]. В 5'-нетранслируемой области гена *CAT* обнаружены три частых полиморфизма: -21A>T, -262C>T и -844C>T, из которых -262C>T изменяет регуляторную нуклеотидную последовательность, необходимую для связывания транскрипционного фактора, таким образом, влияя на уровень экспрессии гена каталазы [71]. В двух исследованиях [69, 72] изучалась ассоциация полиморфизма -262C>T с риском развития БА. Так, Islam и соавт. [72] у испанских детей обнаружили ассоциацию аллеля -262T с повышенным риском развития БА, тогда как в исследовании Mak и соавт., выполненном в китайской популяции [69], данный аллель, наоборот, ассоциировался с пониженным риском развития болезни. Протективный эффект аллеля -262T также обнаружен в работе Nadif и соавт. [70], которые исследовали шахтёров, подвергавшихся воздействию угольной пыли, и у которых активность каталазы эритроцитов снижалась пропорционально повышению концентрации пыли исключительно у носителей аллеля -262T. В исследованной нами русской популяции не обнаружено связи полиморфизма -262C>T с развитием бронхиальной астмы. Однако нами была впервые выявлена связь другого полиморфизма -21A>T (rs7943316) с развитием БА у курящих мужчин и у лиц с пониженным употреблением свежих овощей и фруктов [73]. Учитывая наличие неравновесия по сцеплению между полиморфизмами -262C>T и -21A>T [71, 73], можно полагать, что сниженная активность каталазы, детерминированная функционально неполноценным аллелем -21A гена *CAT*, связана с повышенным риском развития бронхиальной астмы посредством индукции ОС на фоне недостаточной детоксикации образующихся гидроперекисей. Результаты протеомного

исследования [74], обнаружившего снижение более чем на 50% уровня каталазы в бронхоальвеолярной жидкости у больных БА, а также результаты биохимического исследования крови Novák и соавт. [75], подтверждают потенциальную вовлечённость гена *CAT* в патогенез заболевания.

#### 4.5. Глутатионпероксидазы (GPx)

GPx представляют собой семейство содержащих селен ферментов, которые, подобно каталазе, осуществляют восстановление гидропероксидов с помощью глутатиона в различных видах клеток. Сродство глутатионпероксидазы к  $H_2O_2$  выше, чем у каталазы, поэтому GPx более эффективно функционируют при низких концентрациях субстрата [4]. В медико-биологической литературе существуют противоречивые данные относительно активности глутатионпероксидаз в крови при БА. В одних исследованиях не было обнаружено различий в активности GPx в крови среди больных БА и здоровых, тогда как в других работах у больных БА такие различия наблюдались [76].

**Глутатионпероксидаза 1 типа (GPx1)** представляет собой фермент с молекулярной массой 84-88 кДа, состоящий из четырёх идентичных субъединиц, каждая из которых включает по 1 атому селена [3]. Основной функцией GPx1 является защита биологических мембран и внутриклеточных органелл от окислительного повреждения пероксидами водорода, органическими гидропероксидами, гидропероксидами жирных кислот и фосфолипидов [77]. По сути, GPx1 является адаптивным ферментом, активность которого регулируется продуктами ПОЛ и АФК. GPx1 является одним из главных внутриклеточных антиоксидантных ферментов, экспрессирующихся практически во всех тканях, в том числе в бронхиальном дереве и лёгких (в эпителии бронхов, лёгких, дендритных клетках и моноцитах) [77]. Хотя ген *GPx1* является высоко полиморфным, наиболее частым и функционально значимым ОНП является аминокислотная замена P198L (rs1050450). Установлено, что гетерозиготные носители мутантного аллеля 198L гена *GPx1* имеют на 40% меньшую ферментативную активность, чем обладатели аллеля дикого типа 198P [78]. Нами установлена ассоциация полиморфизма L198P гена *GPx1* с предрасположенностью к аллергической БА у мужчин-курильщиков [79, 80]. Пониженная активность фермента у носителей генотипа 198LP на фоне курения может усугублять процесс детоксикации гидроперекисей, накопление которых создает условия для возникновения ОС, развития бронхоспазма и воспаления бронхиального дерева при БА.

**Глутатионпероксидаза 2 типа (GPx2)** – фермент, основная функция которого состоит в защите клеток от избытка продуктов ПОЛ, поступающих и образующихся в желудочно-кишечном тракте. В гене *GPx2* обнаружено два частых ОНП [81], одним из которых является аминокислотная замена G173V (rs17880492). Нами не была обнаружена ассоциация

указанного полиморфизма с риском развития бронхиальной астмы в русской популяции [62].

**Глутатионпероксидаза 3 типа (GPx3)** – внеклеточный фермент, обезвреживающий пероксид водорода, органические гидропероксиды, включая гидропероксиды жирных кислот [82]. На долю GPx3 приходится почти 50% активности глутатионпероксидаз в лёгочной ткани и бронхах [83]. В сравнении со здоровыми индивидами, у больных БА установлено повышение уровня GPx3 в бронхоальвеолярной жидкости и повышение уровня мРНК в эпителиальных клетках бронхов [84]. Авторы данной работы предположили, что указанные выше изменения у больных БА индуцированы под влиянием избыточного накопления АФК и связанным с ним ОС. Наиболее частым полиморфизмом гена *GPx3* является ОНП G>A, характеризующийся синонимичной аминокислотной заменой T39T (rs2070593). Проведённое нами исследование в популяции русских не выявило ассоциации данного полиморфизма с риском развития БА [62].

**Глутатионпероксидаза 4 типа (GPx4)** – мембрано-связанный фермент, обезвреживающий гидропероксиды фосфолипидов в клеточных мембранах и липопротеинах [85]. Существует прямо пропорциональная зависимость между экспрессией/активностью GPx4 и уровнем поступления в организм селена – максимально высокая концентрация фермента определяет его наиболее высокую активность [85]. Наиболее частым полиморфизмом гена *GPx4* является ОНП C718T (rs713041), расположенный в 3'-нетранслируемой области гена и влияющей на его транскрипционную активность. Исследование данного полиморфизма не выявило его взаимосвязи с риском развития БА в русской популяции [62].

## 5. РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА ГЛУТАТИОНА В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Глутатион представляет собой главный природный антиоксидант, который, наряду с вовлечённостью в механизмы регуляции иммунных и воспалительных процессов в бронхолёгочной системе, играет решающую роль в поддержании внутриклеточного редокс-гомеостаза, защищая клетки лёгких и дыхательных путей от ОС [86]. Когда продукция АФК превышает способность поражённой ткани нейтрализовать их влияния, истощение внутриклеточного глутатиона может приводить к формированию ОС, повреждению тканевых структур бронхолёгочной системы с последующим развитием воспалительного процесса. Известно, что поддержание достаточного уровня восстановленного глутатиона (GSH) в иммунных клетках представляет собой ключевой механизм поддержания Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> баланса иммунного ответа и обеспечения презентации антигена [76]. GSH осуществляет детоксикацию пероксида водорода, а также гидропероксидов,



образующихся в результате реакции АФК с полиненасыщенными жирными кислотами клеточных мембран, тем самым, защищая лёгкие и дыхательные пути от окислительного повреждения. В свою очередь изменение баланса между GSH и GSSG (дисульфидная форма глутатиона) в сочетании с нарушением активности или экспрессии ферментов АОС может нарушать рецептор-индуцированную и опосредованную АФК передачу сигналов, контролирующую иммунные реакции, что может иметь значение в развитии БА [76]. Экспериментальные и клинические исследования БА выявили нарушения метаболизма глутатиона и активности ферментов, участвующих в его обмене. В частности, у взрослых больных БА обнаружено повышение уровня общего и окисленного глутатиона в мокроте и бронхоальвеолярной жидкости по сравнению со здоровыми людьми [76]. В то же время у детей, страдающих БА, в конденсате выдыхаемого воздуха установлено существенное снижение уровня восстановленного глутатиона по сравнению со здоровыми детьми [76]. По всей видимости, вариабельность уровня глутатиона может быть связана с нарушениями активности и/или содержания ферментов, напрямую и косвенно вовлеченных в его метаболизм. К ферментам метаболизма глутатиона следует отнести глутатионредуктазу, глутаматцистеинлигазу, глутатион S-трансферазы, глутатионпероксидазы, глутамилтранспептидазу и глутатионсинтазу.

### 5.1. Глутатионредуктаза (GSR)

GSR – фермент, осуществляющий NADPH-зависимое восстановление активной формы глутатиона (GSH) из его дисульфидной формы (GSSG) [4]. Глутатионредуктаза состоит из двух субъединиц с молекулярной массой 50-55 кДа. Клинико-биохимические исследования показали неоднозначные результаты относительно изменений количественного содержания и активности глутатионредуктазы при БА. Так, Gumral и соавт. установили снижение уровня GSR в эритроцитах больных БА во время обострений [87]. Однако в исследовании Fitzpatrick и соавт. [88] не было обнаружено различий в активности GSR в бронхоальвеолярной жидкости между группами больных БА и здоровых лиц. Выполненное нами исследование в русской популяции выявило взаимосвязь полиморфизма T>C (rs2551715) в 9 интроне гена *GSR* с риском развития аллергической БА [62], тем самым, впервые демонстрируя потенциальную вовлечённость гена глутатионредуктазы в патогенез этой болезни.

### 5.2. Глутаматцистеинлигаза (GCL)

GCL – фермент, также известный как  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтаза, катализирует первый лимитирующий этап биосинтеза активной формы глутатиона – образование промежуточного дипептидного продукта (L- $\gamma$ -глутамил-L-цистеин), который затем при участии глутатионсинтазы

превращается в GSH. Глутаматцистеинлигаза состоит из двух субъединиц – тяжёлой каталитической (GCLC) и лёгкой регуляторной или модифицирующей (GCLM). Одним из наиболее изученных функциональных полиморфизмов является -129C>T (rs17883901). Установлено, что носители аллеля -129T имеют на 50-60% более низкую, чем у носителей аллеля -129C, активность промотора гена GCLC в ответ на стимуляцию эндотелиальных клеток пероксидом водорода [89]. В 5'-фланкирующем регионе гена *GCLM* находятся два сцепленных полиморфизма, -588C>T (rs41303970) и -23G/T (rs743119), ассоциированные с пониженной активностью промотора гена в ответ на окислительные стимулы, а также с пониженным уровнем GSH в плазме крови [90]. Нами были обнаружены ассоциации генотипов двух сцепленных ОНП -588C>T и -23G>T гена *GCLM* с развитием неаллергической формы БА у русских жителей [91]. Предполагается, что наличие “низкоактивного” аллеля -588T способствует снижению выработки внутриклеточного глутатиона в ответ на ОС и приводит к увеличению чувствительности клеток бронхиального дерева и лёгких к окислительному повреждению.

### 5.3. Глутатион-S-трансферазы (GST)

GST представляют собой многочисленное семейство антиоксидантных ферментов, играющее важнейшую роль в защите клеток от ОС, обезвреживании и подготовке к выведению из организма веществ с потенциально токсичными и канцерогенными свойствами, которые они приобретают в результате их метаболической активации на первой фазе биотрансформации ксенобиотиков [92]. Ферментативная реакция GST заключается в нуклеофильном присоединении (конъюгации) восстановленного глутатиона к неполярным компонентам, содержащим электрофильный атом углерода, азота или серы. Глутатион S-трансферазы формируют три главных семейства, два из которых – цитозольные и митохондриальные GST, а третье семейство включает микросомальные GST, называемые также MAPEG – мембраносвязанные ферменты, участвующие в метаболизме эйкозаноидов и глутатиона [93]. Цитозольные GST – индуцибельные ксенобиотиками ферменты, включающие, по меньшей мере, 17 изоформ, объединённых более чем в 8 основных классов:  $\alpha$  (GSTA1-GSTA5),  $\mu$  (GSTM1-GSTM5),  $\pi$  (GSTP1),  $\sigma$  (GSTS1),  $\theta$  (GSTT1 и GSTT2),  $\omega$  (GSTO1 и GSTO2),  $\xi$  (GSTZ1) и  $\kappa$  (GSTK1) [92]. Многочисленными исследованиями были установлены ассоциации полиморфных вариантов различных генов семейства ферментов GST с бронхиальной астмой и другими аллергическими заболеваниями.

**Глутатион S-трансферазы класса  $\mu$**  подразделяются на 5 групп: GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4 и GSTM5. Изоформы GSTM1, GSTM3 совместно с GSTP1 конъюгируют восстановленный глутатион с реактивными эпоксидными

метаболитами ПАУ, образующимися в результате активации системой цитохромов P450. Субстратами GSTM1 являются продукты промышленного загрязнения, пестициды, инсектициды, гербициды, противоопухолевые препараты, эндогенные ненасыщенные альдегиды, ПАУ, фосфорорганические соединения, нитросоединения, гетероциклические амины, ареноксины, хиноны, эпоксины и гидропероксиды [92], многие из которых могут быть этиологически связаны с развитием БА. Наиболее часто исследуемой мутацией гена *GSTM1* является протяжённая делеция в области 6 и 7 экзонов (так называемый нулевой или делеционный полиморфизм), которая блокирует экспрессию гена [92]. Ассоциация делеционного полиморфизма гена *GSTM1* с повышенным риском развития БА подтверждена мета-анализом исследований, проводившихся в различных странах мира [94].

**Глутатион S-трансферазы класса  $\theta$**  подразделяются на 2 группы: GSTT1 и GSTT2. Изоформа GSTT1 осуществляет конъюгацию глутатиона с высоко реактивными оксидантами, являющимися компонентами табачного дыма и поллютантов атмосферного воздуха, а также продуктами ПОЛ [92]. Существует протяжённая делеция в кодирующей части (4 экзон) гена *GSTT1* (так называемый нулевой полиморфизм), которая блокирует синтез фермента [95]. В литературе имеется большое число работ, посвящённых изучению связи делеционного полиморфизма гена *GSTT1* с риском развития БА. Результаты мета-анализа [94] показали, что делеционный полиморфизм гена *GSTT1* является генетическим маркером предрасположенности к БА, в том числе и в русской популяции [96].

**Глутатион S-трансфераза класса  $\pi$  (GSTP1).** Данная форма является доминирующей среди всех классов цитозольных GST в лёгких. В гене *GSTP1* идентифицировано два наиболее распространённых и функционально значимых ОНП: I105V (rs1695) и A114V (rs1138272), которые находятся в неравновесии по сцеплению друг с другом [97]. Описано три аллельных варианта гена *GSTP1*: *GSTP1\*А* (I105, A114), *GSTP1\*В* (V105, A114) и *GSTP1\*С* (V105, V114), которые характеризуются различиями в активности метаболизма ксенобиотиков. Установлено, что аллель I105 более активен в метаболизме 3,4-дихлоро-1-нитробензола, тогда как вариантный аллель V105 в 7 раз более активен в метаболизме ПАУ [95]. Установлено, что полиморфные варианты гена *GSTP1* (особенно I105V) ассоциированы с БА в отдельных европейских популяциях [98]. В русской популяции нами также обнаружена связь полиморфизма I105V гена *GSTP1* с риском развития детской формы БА [99], тогда как полиморфизмы I105V и A114V с гена *GSTP1* и делеционные варианты генов *GSTM1* и *GSTT1* не ассоциировались с БА в исследованной нами взрослой популяции [100, 101].

Генетико-биохимических исследований глутамилтранспептидазы и глутатионсинтазы при БА не проводилось.

## 6. РОЛЬ ДРУГИХ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Среди других генов АОС, исследованных на предмет связи с развитием БА, можно отметить синтазы оксида азота (NOS), которые представляют собой ферменты, катализирующие реакцию L-аргинина, NADPH и кислорода в свободный радикал оксид азота (NO), цитруллин и NADP [102]. Известно три изоформы NO-синтаз: NOS1, NOS2 и NOS3. Изоформа 1-го типа (NOS1) представляет собой нейрональную NO-синтазу, изоформа 2-го типа – индуцибельную форму фермента (NOS2) и изоформа 3-го типа – эндотелиальную NO-синтазу (NOS3) [102]. Полиморфизмы генов *NOS1*, *NOS2* и *NOS3* (преимущественно варианты гена *NOS2*) тесно ассоциированы с уровнем NO в выдыхаемом воздухе [103], причём данный показатель повышен у больных БА [104]. Отдельными генетико-эпидемиологическими исследованиями установлены связи риска развития БА с числом нуклеотидных СА-повторов во 2 интроне [105] и 29 экзоне [106], а также ААТ-повторов в 20 интроне [104] гена *NOS1*. Хотя в отношении полиморфизмов генов *NOS2* и *NOS3* не были установлены ассоциации с риском развития БА, показана их сопряженность с патогенетически значимыми для болезни фенотипами, такими как уровень IgE, атопия и концентрация оксида азота в выдыхаемом воздухе [103, 107]. В исследованной нами русской популяции [62] были исследованы ассоциации с БА и других генов АОС: пероксиредоксина (*PRDX1*), тиоредоксинредуктазы (*TXNRD1*), параоксоназ 1 и 2-го типов (*PON1* и *PON2*), однако связь с развитием болезни была установлена только полиморфизма Q192R гена *PON1*, которая требует подтверждения в других независимых исследованиях.

В таблице суммированы результаты основных исследований, обнаруживших ассоциации генов ферментов АОС с развитием бронхиальной астмы в различных популяциях мира.

## 7. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВОВЛЕЧЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ПАТОГЕНЕЗ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Многочисленные публикации свидетельствуют о существовании при БА первичных нарушений в функционировании антиоксидантной системы, характеризующихся преимущественно снижением активности и/или содержания ферментов АОС, которое коррелирует с тяжестью течения болезни и выраженностью обструкции бронхов, сохраняется вне приступа удушья и обнаруживается в фазе клинической ремиссии. Генетические исследования по изучению ассоциаций полиморфизма генов ферментов АОС с риском развития БА астмы пока немногочисленны и характеризуются определёнными межпопуляционными различиями в полученных результатах. Тем не менее, уже сейчас можно



Таблица. Сводные данные по результатам основных исследований, обнаруживших ассоциации генов ферментов АОС с развитием бронхиальной астмы в различных популяциях мира.

Ген/ фермент АОС	Полиморфизм	Генетический вариант	Связь с бронхиальной астмой		Популяция, число больных БА/здоровых	Литературная ссылка
	(SNP ID)		Клиническая форма бронхиальной астмы (БА)	Отношение шансов (OR) и 95%-й доверительный интервал (95% CI)		
CYBA	640A>G (rs1049255) 242C>T (rs4673) -930A>G (rs9932581)	Генотип 640AG Генотип 640AA	Аллергическая БА (взрослые)	0,63 (0,41–0,96) 1,76 (1,07–2,90)	Русские, 209/210	[37]
		Генотип -930GG	Неаллергическая БА (мужчины)	2,86 (1,06–7,77) <sup>1</sup> 3,11 (1,01–9,63) <sup>2</sup>	Русские, 215/214	[38]
		Гаплотип -930G/242T/640A	БА (взрослые)	1,43 (1,06–1,93)	Чехи, 305/311	[39]
NQO1	P187S (rs1800566) 1574G>C (rs2917666) R139W (rs4986998)	Генотипы 187PS или 187SS	БА (дети)	0,4 (0,2–0,8) <sup>3</sup>	Мексиканцы, 218 семей	[43]
		Генотип 187P Генотип 1574CC	БА (взрослые)	1,36 (1,03–1,84) <sup>4</sup> 1,54 (1,10–2,24) <sup>4</sup>	Европейцы, когорта 2920 человек	[47]
		Генотипы 187PS или 187SS	БА (дети)	1,6 (1,3–1,8)	Китайцы, 215/877	[45]
		Генотип 187SS	Аллергическая БА (женщины)	6,35 (1,1–37,5)	Русские, 215/214	[48]
		Аллель 187S	БА (дети)	0,73 (-)	Канадцы, 254 семьи	[46]
MPO	-463G>A (rs2333227)	Генотипы -463GA или -463AA	Аллергическая БА (взрослые)	0,43 (0,24–0,78)	Русские, 215/214	[53]
CAT	-262C>T (rs1001179) с.67-1083C>T (rs11032703) -21A/T (rs7943316)	Генотипы -262CT или -262TT	БА (дети)	1,93 (1,05–3,55)	Испанцы США, когор- та 576 человек	[72]
		Аллель -262T	БА (взрослые)	0,35 (0,15-0,85)	Китайцы, 251/316	[69]
		Аллель с.67-1083T	БА (дети)	1,73 (-)	Канадцы, 254 семьи	[46]
		Генотип -21AA	Неаллергическая БА (взрослые)	6,77 (1,97–23,18) <sup>1</sup> 5,41 (1,62–18,06) <sup>2</sup>	Русские, 215/214	[73]
GPX1	P198L (rs1050450)	Генотип 198PL	Аллергическая БА (мужчины)	2,21 (1,17–4,19)	Русские, 213/205	[79]
				2,51 (1,04–6,06) <sup>1</sup>	Русские, 195/167	[80]
GCLM	-588C/T (rs41303970) -23G>T (rs743119)	Генотип -588TT/-23TT	Аллергическая БА (взрослые)	0,33 (0,15-0,70)	Русские, 221/214	[91]
		Генотип -588CT/-23GT	Неаллергическая БА (взрослые)	2,03 (1,05-3,90)		
GSTM1	+/-del (del/del)	Генотип del/del	БА (взрослая и детская)	1,28 (1,09–1,52)	Мета-анализ 22 работ, 4416/23902	[94]
GSTT1	+/-del (del/del)	Генотип del/del	БА (взрослая и детская)	1,39 (1,09–1,77)	Мета-анализ 19 работ, 3852/22880	[94]

Примечание. 1 - у курильщиков; 2 - у лиц с пониженным употреблением свежих овощей и фруктов; 3 - у гомозиготных носителей 0/0 гена *GSTM1* при воздействии высоких концентраций озона O<sub>3</sub>; 4 - при воздействии окиси азота NO<sub>2</sub>.

с высокой долей уверенности полагать, что гены ферментов АОС являются важной генетически детерминированной составляющей предрасположенности к болезни, реализуя свои патологические эффекты посредством ослабления антиоксидантного статуса и усиления активности свободно-радикальных процессов при участии факторов внешней среды прооксидантной природы, таких как курение, химическое загрязнение воздуха и другие факторы. Гены ферментов АОС представляют собой часть полигенной основы развития БА, а сложный характер взаимодействия между ними объясняет генетические различия между людьми и популяциями в отношении предрасположенности к болезни (генетическая гетерогенность БА) и формированию различных клинических фенотипов патологии (клинический полиморфизм БА). Данные предположения получили прямое подтверждение в результате нашего недавнего исследования, в рамках которого впервые проанализированы взаимодействия между 34 функционально значимыми полиморфизмами генов ферментов АОС при аллергической и неаллергической формах БА с помощью современных биоинформатических подходов [62]. Установлено, что в формирование клинко-патогенетических вариантов БА одновременно вовлечён широкий спектр различных генов ферментов АОС, которые тесно взаимодействуют с генами, контролирующими известные иммунопатологические механизмы заболевания. Следует заметить, что сложный характер межгенных взаимодействий может определять разнонаправленные векторы патофизиологических нарушений, включающих аллергические и неаллергические механизмы развития болезни. Нами были представлены убедительные доказательства системной вовлечённости генов ферментов АОС в патогенез БА и их потенциальную связь с биохимическими нарушениями редокс-регуляции и контроля окислительного стресса, обнаруженные в многочисленных зарубежных и отечественных исследованиях последних лет.

Таким образом, представляется важным выделить основные патогенетические механизмы, посредством которых полиморфные варианты генов ферментов АОС могут быть вовлечены в развитие бронхиальной астмы. Патогенетическую основу развития БА составляет не только нарушения врожденного иммунитета и связанных с ними изменениями дифференцировки и активности Т-хелперов 2 типа, но и генетически детерминированный дисбаланс в функционировании ферментов прооксидантного и антиоксидантного действия. Прооксидантные влияния могут быть вызваны, с одной стороны, воздействием на бронхолегочную систему одноименных факторов среды, таких как табачный дым, поллютанты вдыхаемого воздуха и другие агенты, с другой, – поддерживаться изначально повышенной активностью оксидантных ферментов и пониженной активностью антиоксидантных ферментов. В качестве фермента, способного генерировать большое число АФК, может выступать NADPH-оксидаза,

одной из структурно-функциональных элементов которой является  $\alpha$ -субъединица (CYBA), “проактивные” аллели которого связаны с развитием клинко-патогенетических вариантов болезни. Недостаточность функционирования АОС в бронхолегочной системе при БА может проявляться дефицитом и/или пониженной активностью таких ферментов, как: 1) глутатионпероксидазы 1, 2, 3 и 4 типов, а также каталаза, осуществляющие детоксикацию пероксида водорода и органических гидропероксидов; 2) ферментов метаболизма глутатиона – глутаматцистеинлигазы и глутатионредуктазы, которые могут быть причиной эндогенного дефицита природного антиоксиданта глутатиона; 3) других ферментов (в частности, NQO1, EPHX1, PON1 и PON2), осуществляющих детоксикацию реактивных метаболитов, в том числе образующихся в результате метаболической активации цитохромами P450 на 1-й фазе биотрансформации ксенобиотиков. Биохимические нарушения, формирующиеся на фоне недостаточности антиоксидантного статуса и избыточного накопления АФК создают в бронхолегочной системе условия для перенапряжения системы редокс-гомеостаза и инициируют развитие окислительного стресса – ключевого механизма возникновения БА. Многочисленные исследования подтверждают гипотезу о том, что окислительный стресс играет ключевую роль в развитии БА и реализует свои негативные влияния посредством таких механизмов как: повреждение эпителия дыхательных путей, увеличение сократимости гладкомышечных клеток бронхиального дерева, развитие гиперреактивности бронхов и их обструкции, усиление сосудистой проницаемости и клеточной экссудации – изменений, имеющих непосредственное отношение к молекулярно-биохимическим механизмам патогенеза БА [18-20, 108]. Так, выброс цитокинов индуцирует активацию и миграцию воспалительных клеток, приводящих к обструкции дыхательных путей, нарушению мукоциллиарного транспорта, а также усилению гиперреактивности гладкомышечных клеток бронхов. Клетки, инфильтрирующие слизистую оболочку бронхов, продуцируют большое количество АФК, что, в свою очередь, вызывает окисление белков, усиливает ПОЛ, способствуя выбросу хемоаттрактантов и арахидоновой кислоты из клеточных мембран. Последние увеличивают проницаемость сосудов, еще больше усиливают сократительные свойства гладкомышечных клеток, секрецию и гиперреактивность бронхов [13]. Следует отметить, что окислительные повреждения способны накапливаться в дыхательных путях, приводя к персистированию приступов БА и дальнейшему выбросу провоспалительных медиаторов, усугубляя течение заболевания. Усиленный респираторный взрыв в клетках эпителия дыхательных путей – следствие окислительного стресса, вызванного самоокислением фагоцитов и выбросом внутриклеточных оксидантов (преимущественно супероксидных анионных радикалов), что, в конечном счёте, приводит

к вторичному повреждению дыхательных путей, поддержанию в них воспалительного процесса, ремоделированию бронхиального дерева.

В заключении хотелось бы отметить, что учитывая генетическую гетерогенность и сложность механизмов патогенеза БА, представляется целесообразным дальнейшее комплексное генетико-биохимическое исследование роли полиморфных вариантов генов ферментов АОС совместно со средовыми факторами риска с целью выявления патогенетически важных генно-средовых взаимодействий и более глубокого понимания молекулярных основ развития заболевания. Систематическое изучение молекулярных механизмов регуляции редокс-гомеостаза позволит установить слабые звенья в функционировании системы антиоксидантной защиты и оценить их непосредственную вовлечённость в патогенез БА. Генетико-биохимические нарушения в системе редокс-гомеостаза при БА обосновывают целесообразность внедрения в клиническую практику элементов антиоксидантной терапии, направленных на превентивную коррекцию молекулярных нарушений, формирующихся задолго до клинической манифестации болезни. В свете современных тенденций развития мировой медицины такой подход будет востребован персонализированной молекулярной медициной, основы которой закладываются уже сегодня.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Скулачев В.П. (1998) Биохимия, **63**, 1335-1343.
2. Величковский Б.Т. (2001) Вестник РАМН, №6, 45-52.
3. Кулинский В.И. (1999) СОЖ, **1**, 2-7.
4. Halliwell B.B., Gutteridge M.C.J. (2007) Free radicals in biology and medicine, Fourth edition, University press, Oxford.
5. Vercelli D. (2008) Nat. Rev. Immunol., **8**, 169-182.
6. Moffatt M.F., Kabesch M., Liang L., Dixon A.L., Strachan D., Heath S., Depner M., von Berg A., Bufer A., Rietschel E. et al. (2007) Nature, **448**, 470-473.
7. Wjst M., Sargurupremraj M., Arnold M. (2013) Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol., **13**, 112-118.
8. Gudbjartsson D.F., Bjornsdottir U.S., Halapi E., Helgadottir A., Sulem P., Jonsdottir G.M., Thorleifsson G., Helgadottir H., Steinthorsdottir V., Stefansson H. et al. (2009) Nat. Genet., **41**, 342-347.
9. Moffatt M.F., Gut I.G., Demenais F., Strachan D.P., Bouzigon E., Heath S., von Mutius E., Farrall M., Lathrop M., Cookson W.O., GABRIEL Consortium (2010) N. Engl. J. Med., **363**, 1211-1221.
10. Torgerson D.G., Ampleford E.J., Chiu G.Y., Gauderman W.J., Gignoux C.R., Graves P.E., Himes B.E., Levin A.M., Mathias R.A., Hancock D.B. et al. (2011) Nat. Genet., **43**, 887-892.
11. Ramasamy A., Kuokkanen M., Vedantam S., Gajdos Z.K., Couto Alves A., Lyon H.N., Ferreira M.A., Strachan D.P., Zhao J.H., Abramson M.J. et al. (2012) PLoS One, **7**, e44008.
12. Ober C., Yao T.C. (2011) Immunol. Rev., **242**, 10-30.
13. Barnes P.J. (2008) Nat. Rev. Immunol., **8**, 183-192.
14. Holgate S.T. (2012) Nat. Med., **18**, 673-683.
15. Pearson T.A., Manolio T.A. (2008) JAMA, **299**, 1335-1344.
16. Evangelou E., Ioannidis J.P. (2013) Nat. Rev. Genet., **14**, 379-389.
17. Eichler E.E., Flint J., Gibson G., Kong A., Leal S.M., Moore J.H., Nadeau J.H. (2010) Nat. Rev. Genet., **11**, 446-450.
18. Ercan H., Birben E., Dizdar E.A., Keskin O., Karaaslan C., Soyer O.U., Dut R., Sackesen C., Besler T., Kalayci O. (2006) J. Allergy Clin. Immunol., **118**, 1097-1104.
19. Peden D.B. (2011) Immunol. Rev., **242**, 91-105.
20. Montuschi P., Corradi M., Ciabattini G., Nightingale J., Kharitonov S.A., Barnes P.J. (1999) Am. J. Respir. Crit. Care Med., **160**, 216-220.
21. Shanmugasundaram K.R., Kumar S.S., Rajajee S. (2001) Clin. Chim. Acta, **305**, 107-114.
22. Ashutosh K. (2000) Curr. Opin. Pulm. Med., **6**, 21-25.
23. Emelyanov A., Fedoseev G., Abulimity A., Rudinski K., Fedoulov A., Karabanov A., Barnes P.J. (2001) Chest, **120**, 1136-1139.
24. Liao M.F., Chen C.C., Hsu M.H. (2004) Acta Paediatr. Taiwan, **45**, 213-217.
25. Bentur L., Mansour Y., Brik R., Eizenberg Y., Nagler R.M. (2006) Respir. Med., **100**, 1195-1201.
26. Caballero Balanzá S., Martorell Aragonés A., Cerdá Mir J.C., Ramírez J.B., Navarro Iváñez R., Navarro Soriano A., Félix Toledo R., Escribano Montaner A. (2010) J. Investig. Allergol. Clin. Immunol., **20**, 237-243.
27. Dworski R., Murray J.J., Roberts L.J. 2nd, Oates J.A., Morrow J.D., Fisher L., Sheller J.R. (1999) Am. J. Respir. Crit. Care Med., **160**, 1947-1951.
28. Bastaki M., Huen K., Manzanillo P., Chande N., Chen C., Balmes J.R., Tager I.B., Holland N. (2006) Pharmacogenet. Genomics., **16**, 279-286.
29. Crawford A., Fassett R.G., Geraghty D.P., Kunde D.A., Ball M.J., Robertson I.K., Coombes J.S. (2012) Gene, **501**, 89-103.
30. Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. (2012) World Allergy Organ J., **5**, 9-19.
31. Kinnula V.L., Pietarinen P., Aalto K., Virtanen I., Raivio K.O. (1995) Am. J. Physiol., **268**, 71-77.
32. Shatwell K.P., Segal A.W. (1996) Int. J. Biochem., **28**, 1191-1195.
33. Stocker R., Keaney J.F. Jr. (2004) Physiol. Rev., **84**, 1381-1478.
34. De Keulenaer G.W., Alexander R.W., Ushio-Fukai M., Ishizaka N., Griendling K.K. (1998) Biochem. J., **329**, 653-657.
35. Moreno M.U., San José G., Orbe J., Páramo J.A., Belouqui O., Díez J., Zalba G. (2003) FEBS Lett., **542**, 27-31.
36. Huang J., Hitt N.D., Kleinberg M.E. (1995) Biochemistry, **34**, 16753-16757.
37. Иванов В.П., Солодилова М.А., Полоников А.В., Хорошая И.В., Кожухов М.А., Панфилов В.И. (2008) Генетика, **44**, 1-9.
38. Полоников А.В., Иванов В.П., Солодилова М.А., Кожухов М.А., Панфилов В.И., Булгакова И.В. (2009) Терапевт. архив, №3, 31-35.
39. Izakovicova Holla L., Kanková K., Znojil V. (2009) Int. Arch. Allergy Immunol., **148**, 73-80.
40. Ross D., Kepa J.K., Winski S.L., Beall H.D., Anwar A., Siegel D. (2000) Chem. Biol. Interact., **129**, 77-97.
41. Nebert D.W., Roe A.L., Vandale S.E., Bingham E., Oakley G.G. (2002) Genet. Med., **4**, 62-70.
42. Moran J.L., Siegel D., Ross D. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **96**, 8150-8155.



43. David G.L., Romieu I., Sienra-Monge J.J., Collins W.J., Ramirez-Aguilar M., del Rio-Navarro B.E., Reyes-Ruiz N.I., Morris R.W., Marzec J.M., London S.J. (2003) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **168**, 1199-1204.
44. Reddy P., Naidoo R.N., Robins T.G., Mentz G., London S.J., Li H., Naidoo R. (2010) *Lung*, **188**, 409-414.
45. Li Y.F., Tseng P.J., Lin C.C., Hung C.L., Lin S.C., Su W.C., Huang Y.L., Sung F.C., Tai C.K. (2009) *Mutat. Res.*, **678**, 53-58.
46. Morin A., Brook J.R., Duchaine C., Laprise C. (2012) *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **9**, 2620-2635.
47. Castro-Giner F., Künzli N., Jacquemin B., Forsberg B., de Cid R., Sunyer J., Jarvis D., Briggs D., Vienneau D., Norback D. et al. (2009) *Environ. Health Perspect.*, **117**, 1919-1924.
48. Полоников А.В., Солодилова М.А., Иванов В.П., Васильева О.В., Бушueva О.Ю., Рыжаева В.Н., Иванова Н.В., Богомазов А.Д., Дедков А.А., Кожухов М.А., Панфилов В.И., Чурносков М.И. (2011) *Медицинская генетика*, **4**, 23-27.
49. Wan J., Diaz-Sanchez D. (2006) *J. Immunol.*, **177**, 3477-3483.
50. Klebanoff S.J. (1999) *Proc. Assoc. Am. Phys.*, **111**, 383-389.
51. Schmekel B., Karlsson S.E., Linden M., Sundström C., Tegner H., Venge P. (1990) *Inflammation*, **14**, 447-454.
52. Mäkelä R., Dastidar P., Jokela H., Saarela M., Punnonen R., Lehtimäki T. (2003) *J. Clin. Endocr. Metab.*, **88**, 3823-3828.
53. Polonikov A.V., Solodilova M.A., Ivanov V.P. (2009) *J. Asthma*, **46**, 523-528.
54. Millstein J., Conti D.V., Gilliland F.D., Gauderman W.J. (2006) *Am. J. Hum. Genet.*, **78**, 15-27.
55. Wenten M., Gauderman W.J., Berhane K., Lin P.C., Peters J., Gilliland F.D. (2009) *Am. J. Epidemiol.*, **170**, 1494-1501.
56. Piedrafita F.J., Molander R.B., Vansant G., Orlova E.A., Pfahl M., Reynolds W.F. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 14412-14420.
57. Van Schooten F.J., Boots A.W., Knaapen A.M., Godschalk R.W., Maas L.M., Borm P.J., Drent M., Jacobs J.A. (2004) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **13**, 828-833.
58. Эмекси О.Б., Донма О., Сардоган Е., Илдирум Н., Уйсал О., Демирель Х., Демир Т. (2004) *Биохимия*, **69**, 568-573.
59. Little S.A., MacLeod K.J., Chalmers G.W., Love J.G., McSharry C. (2002) *Am. J. Med.*, **112**, 446-452.
60. Ziegler D.M. (1980) in: *Enzymatic Basis of Detoxication* vol. 1 (Jakoby W.B., ed.), Academic Press, New York.
61. Suh J.K., Robertus J.D. (2002) *Methods Enzymol.*, **348**, 113-121.
62. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Bogomazov A.D., Freidin M.B., Illig T., Solodilova M.A. (2014) *Biomed. Res. Int.*, **2014**, Article ID 708903, doi: dx.doi.org/10.1155/2014/708903.
63. Niwa J., Yamada S., Ishigaki S., Sone J., Takahashi M., Katsuno M., Tanaka F., Doyu M., Sobue G. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 28087-28095.
64. Flekac M., Skrha J., Hilgertova J., Lacinova Z., Jarolimkova M. (2008) *BMC Med. Genet.*, **9**, 30.
65. Gaston B. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, **1810**, 1017-1024.
66. Kinnula V.L., Lehtonen S., Koistinen P., Kakko S., Savolainen M., Kere J., Ollikainen V., Laitinen T. (2004) *Thorax*, **59**, 116-119.
67. Sutton A., Khoury H., Prip-Buus C., Cepanec C., Pessayre D., Degoul F. (2003) *Pharmacogenetics*, **13**, 129-130.
68. Comhair S.A., Xu W., Ghosh S., Thunnissen F.B., Almasan A., Calhoun W.J., Janocha A.J., Zheng L., Hazen S.L., Erzurum S.C. (2005) *Am. J. Pathol.*, **166**, 663-674.
69. Mak J.C., Leung H.C., Ho S.P., Ko F.W., Cheung A.H., Ip M.S., Chan-Yeung, M.M. (2006) *Clin. Exp. Allergy*, **36**, 440-447.
70. Nadif R., Mintz M., Jedlicka A., Bertrand J.P., Kleeburger S.R., Kauffmann F. (2005) *Free Radic. Res.*, **39**, 1345-1350.
71. Forsberg L., Lyrenäs L., de Faire U., Morgenstern R. (2001) *Free Radic. Biol. Med.*, **30**, 500-505.
72. Islam T., McConnell R., Gauderman W.J., Avol E., Peters J.M., Gilliland F.D. (2008) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **177**, 388-395.
73. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Solodilova M.A., Kozhuhov M.A., Panfilov V.I. (2009) *J. Asthma*, **46**, 217-224.
74. Ghosh S., Janocha A.J., Aronica M.A., Swaidani S., Comhair S.A., Xu W., Zheng L., Kaveti S., Kinter M., Hazen S.L., Erzurum S.C. (2006) *J. Immunol.*, **176**, 5587-5597.
75. Novák Z., Németh I., Gyurkovits K., Varga S.I., Matkovic B. (1991) *Clin. Chim. Acta*, **201**, 247-251.
76. Reynaert N.L. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, **1810**, 1045-1051.
77. Arthur J.R. (2000) *Cell. Mol. Life Sci.*, **57**, 1825-1835.
78. Ravn-Haren G., Olsen A., Tjønneland A., Dragsted L.O., Nexø B.A., Wallin H., Overvad K., Raaschou-Nielsen O., Vogel U. (2006) *Carcinogenesis*, **27**, 820-825.
79. Солодилова М.А., Иванов В.П., Полоников А.В., Хорошая И.В., Кожухов М.А., Панфилов В.И. (2007) *Пульмонология*, **17**, 50-53.
80. Солодилова М.А., Иванов В.П., Полоников А.В., Хорошая И.В., Кожухов М.А., Панфилов В.И. (2007) *Терапевт. архив*, №3, 33-36.
81. Chu F.F., Rohan de Silva H.A., Esworthy R.S., Boteva K.K., Walters C.E., Roses A., Rao P.N., Pettenati M.J. (1996) *Genomics*, **32**, 272-276.
82. Yamamoto Y., Takahashi K. (1993) *Arch. Biochem. Biophys.*, **305**, 541-545.
83. Avissar N., Finkelstein J.N., Horowitz S., Willey J.C., Coy E., Frampton M.W., Watkins R.H., Khullar P., Xu Y.L., Cohen H.J. (1996) *Am. J. Physiol.*, **270**, 173-182.
84. Comhair S.A., Bhatena P.R., Farver C., Thunnissen F.B., Erzurum S.C. (2001) *FASEB J.*, **15**, 70-78.
85. Sneddon A.A., Wu H.C., Farquharson A., Grant I., Arthur J.R., Rotondo D., Choe S.N., Wahle K.W. (2003) *Atherosclerosis*, **171**, 57-65.
86. Rahman I., MacNee W. (2000) *Eur. Respir. J.*, **16**, 534-554.
87. Gumral N., Naziroglu M., Ongel K., Beydilli E.D., Ozguner F., Sutcu R., Caliskan S., Akkaya A. (2009) *Cell. Biochem. Funct.*, **27**, 276-283.
88. Fitzpatrick A.M., Teague W.G., Holguin F., Yeh M., Brown L.A. (2009) *J. Allergy Clin. Immunol.*, **123**, 146-152.
89. Koide S., Kugiyama K., Sugiyama S., Nakamura S., Fukushima H., Honda O., Yoshimura M., Ogawa H. (2003) *J. Am. Coll. Cardiol.*, **41**, 539-545.
90. Nakamura S., Kugiyama K., Sugiyama S., Miyamoto S., Koide S., Fukushima H., Honda O., Yoshimura M., Ogawa H. (2002) *Circulation*, **105**, 2968-2973.
91. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Solodilova M.A., Khoroshaya I.V., Kozhuhov M.A., Panfilov V.I. (2007) *Respir. Med.*, **101**, 2422-2424.
92. Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R. (2005) *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **45**, 51-88.
93. Jakobsson P.J., Morgenstern R., Mancini J., Ford-Hutchinson A., Persson B. (1999) *Protein Sci.*, **8**, 689-692.

94. Minelli C., Granell R., Newson R., Rose-Zerilli M.J., Torrent M., Ring S.M., Holloway J.W., Shaheen S.O., Henderson J.A. (2010) *Int. J. Epidemiol.*, **39**, 539-562.
95. Welfare M., Monesola Adekun A., Bassendine M.F., Daly A.K. (1999) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **8**, 289-292.
96. Ivaschenko T.E., Sideleva O.G., Baranov V.S. (2002) *J. Mol. Med.*, **80**, 3943.
97. Ali-Osman F., Akande O., Antoun G., Mao J.X., Buolamwini J. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 10004-10012.
98. Spiteri M.A., Bianco A., Strange R.C., Fryer A.A. (2000) *Allergy*, **55**, 15-20.
99. Дедков А.А., Богомазов А.Д., Иванов В.П., Полоников А.В., Булгакова И.В., Куприянова Я.С. (2011) *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье*, №1, 31-35.
100. Иванов В.П., Полоников А.В., Солодилова М.А., Кожухов М.А., Панфилов В.А. (2005) *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье*, №3, 49-55.
101. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Solodilova M.A. (2009) *J. Hum. Genet.*, **54**, 440-449.
102. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. (2001) *Biochem. J.*, **357**, 593-615.
103. Bouzigon E., Monier F., Boussaha M., Le Moual N., Huyvaert H., Matran R., Letort S., Bousquet J., Pin I., Lathrop M., Kauffmann F., Demenais F., Nadif R., EGEA Cooperative Group (2012) *PLoS ONE*, **7**, e36672.
104. Kharitonov S.A., Yates D., Robbins R.A., Logan-Sinclair R., Shinebourne E.A., Barnes P.J. (1994) *Lancet*, **343**, 133-135.
105. Gao P.S., Kawada H., Kasamatsu T., Mao X.Q., Roberts M.H., Miyamoto Y., Yoshimura M., Saitoh Y., Yasue H., Nakao K. et al. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **267**, 761-763.
106. Grasemann H., Yandava C.N., Storm van's Gravesande K., Deykin A., Pillari A., Ma J., Sanna L.A., Lilly C., Stampfer M.J., Israel E., Silverman E.K., Drazen J.M. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **272**, 391-394.
107. Martínez B., Barrios K., Vergara C., Mercado D., Jiménez S., Gusmão L., Caraballo L. (2007) *Int. Arch. Allergy. Immunol.*, **144**, 105-113.
108. Babusikova E., Jurecekova J., Evinova A., Jesenak M., Dobrota D. (2012) in: *Respiratory Diseases* (Ghanei M., ed.), InTech. Croatia, 151-176.

Поступила: 23. 09. 2013.

## GENETIC AND BIOCHEMICAL MECHANISMS OF INVOLVEMENT OF ANTIOXIDANT DEFENSE ENZYMES IN THE DEVELOPMENT OF BRONCHIAL ASTHMA

*A.V. Polonikov, V.P. Ivanov, A.D. Bogomazov, M.A. Solodilova*

Kursk State Medical University,  
3 Karl Marx str., Kursk, 305041 Russia; tel./fax: +74712-588147, +79102731349;  
e-mail: polonikov@rambler.ru, bogomazov71@mail.ru

In the present review we have analyzed and summarized recent literature data on genetic and biochemical mechanisms responsible for involvement of antioxidant defense enzymes in the etiology and pathogenesis of bronchial asthma. It has been shown that the mechanisms of asthma development are linked with genetically determined abnormalities in the functioning of antioxidant defense enzymes. These alterations are accompanied by a systemic imbalance between oxidative and anti-oxidative reactions with the shift of the redox state toward increased free radical production and oxidative stress, a key element in the pathogenesis of bronchial asthma.

**Key words:** bronchial asthma, etiology and pathogenesis, biochemical abnormalities, free radical processes, oxidative stress, antioxidant defense enzymes, genetic polymorphism.