

## Дослідження можливої ролі поліморфізму генів *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *NAT2* і *ADRB2* у розвитку бронхіальної астми у дітей

П. Ф. Татарський<sup>1</sup>, Н. Г. Чумаченко<sup>4</sup>, А. М. Кучеренко<sup>1,2</sup>, Р. В. Гулковський<sup>1,2</sup>,  
Л. П. Арабська<sup>3</sup>, О. А. Смірнова<sup>3</sup>, С. І. Толкач<sup>3</sup>, Ю. Г. Антипкін<sup>3</sup>, Л. А. Лівшиць<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, Україна, 03680

<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
Вул. Володимирська, 64, Київ, Україна, 01033

<sup>3</sup>Державна установа «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології» НАМН України  
Вул. Мануїльського, 8, Київ, Україна, 04050

<sup>4</sup>Міська лікарня № 9  
Вул. Аношкіна, 72, Дніпродзержинськ, Україна, 51934

tatarsky@yahoо.com

**Мета.** Дослідити зв'язок поліморфних варіантів генів ферментів першої – *CYP1A1* (T6235C) та другої – *NAT2* (C481T, G590A, G857A), *GSTM1* («0»), *GSTT1* («0») і *GSTP1* (A313G) фаз системи детоксикації, а також гена *ADRB2* (C79G) з розвитком бронхіальної астми (БА) у дітей. **Методи.** Поліморфні варіанти вивчали за допомогою ПЛР та ПДРФ-аналізу у 86 здорових індивідів та у 114 пацієнтів з клінічним діагнозом БА. **Результати.** Встановлено частоту поліморфних варіантів генів ферментів першої і другої фаз системи детоксикації, а також гена *ADRB2* у хворих на БА дітей та у здорових індивідів. **Висновки.** Поліморфні варіанти генів *NAT2* (481T), *GSTP1* (313G) і *ADRB2* (79G) та їхні комбінації в генотипі частіше спостерігаються серед пацієнтів з БА порівняно з контрольною групою, що свідчить на користь залучення їх до патогенезу БА у дітей.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, система детоксикації, ген  $\beta$ 2-адренорецептора, поліморфізм, комбінований генотип.

**Вступ.** Бронхіальна астма (БА) – хронічне запальне захворювання дихальних шляхів – є актуальною медико-соціальною проблемою в Україні й світі, яка обумовлена високою захворюваністю і смертністю, а також значними економічними витратами, пов'язаними з інвалідністю хворих на БА [1–5].

Епідеміологічні дослідження минулих років свідчать про те, що в різних країнах на БА хворіють 4–35 % населення, у тому числі 5–10 % дітей [4–8]. В останні 10–15 років через зростання забрудненості навколишнього середовища та появу нових

хімічних алергенів підвищується кількість хворих на БА, а їхнє лікування не завжди ефективне, до того ж у пацієнтів часто спостерігають побічні реакції на лікарські засоби [1, 6].

На сьогодні встановлено, що БА належить до мультифакторних захворювань, етіологія і патогенез яких визначаються складною взаємодією генетичних чинників і факторів довкілля [8–10]. Дослідження молекулярно-генетичних основ спадкової схильності до БА в основному зосереджені на виявленні ролі певних генів та кодованих ними ферментів у патогенезі БА, а також в ефективності терапії цього захворювання.

Встановлено, що завдяки анатомо-фізіологічним особливостям дитячого віку (вузькість просвіту бронхів, підвищена васкуляризація дихальних шляхів, недостатня ригідність грудної клітини та еластичність легень, слабкий розвиток гладенької мускулатури бронхів, гіперсекреція бокалоподібними клітинами в'язкого слизу) БА у дітей супроводжується переважанням набряку слизової оболонки та виділенням слизу у просвіт бронхів над спазмом гладеньких м'язів [11]. У цій же роботі відзначено, що у дітей старшого віку бронхоспазм зустрічається частіше, ніж набряки слизової оболонки, як і у дорослих. Гіперреактивність бронхів змінюється з віком – у дітей та людей похилого віку вона більш виражена, ніж у людей середнього віку. Проте БА може протікати і без гіперреактивності бронхів. Вважають, що тригерами, які призводять до бронхоконстрикції, можуть бути вірусні інфекції, фізична активність, зовнішні хімічні полутанти. Для дитячого віку найчастішими серед них, на відміну від дорослих, є вірусні інфекції [11].

Гени ферментів системи детоксикації розглядають як можливі маркери спадкової схильності до atopії і асоційованих захворювань у зв'язку з тим, що їхні білкові продукти беруть участь у метаболізмі медіаторів алергічного запалення, а також у регуляції механізмів оксидативного стресу, які відіграють важливу роль в патогенезі БА у дітей [10, 12–17].

Особливістю ферментів системи цитохрому P450 є їхня висока активність на основних шляхах надходження ксенобіотиків до організму – дихальному та харчовому.

У свою чергу виявлено, що глутатіон-S-трансферази (GSTM1, GSTT1 і GSTP1) залучені до внутрішньоклітинного транспорту гормонів і біосинтезу простагландинів. Особливо високі концентрації цих ферментів спостерігають в легенях, печінці, нирках і шлунково-кишковому тракті [18–22]. Для генів *GSTM1* і *GSTT1* описано протяжну делецію, внаслідок якої РНК і білковий продукт взагалі не синтезуються (так званий «0»-й алель). Визначено, що в більшості популяцій і етнічних груп кількість індивідів, гомозиготних за цим алелем, складає 35–50 % [17]. До того ж показано, що генетичний поліморфізм, обумовлений мононуклеотидною заміною A313G у гені *GSTP1*, призводить до появи

менш функціонально активної форми ферменту [8, 17]. Білковий продукт гена *GSTP1* знайдено в різних органах і, зокрема, в легенях [8, 17].

N-ацетилтрансферази забезпечують ацетилювання багатьох ксенобіотиків, особливо ліків, що містять ароматичні амінні або гідразинові групи. До субстратів NAT2 також належать токсичні нітрозозаміни в тютюновому димі і пестицидах. Молекулярною основою існування «швидких» і «повільних ацетиляторів» вважають поліморфізми гена *NAT2* [17].

$\beta$ 2-Адренорецептори локалізуються у бронхах, судинах більшості органів, а також практично в усіх клітинах, причетних до імунної відповіді. Їхнє збудження викликає розширення бронхів, що вказує на важливу роль адренорецепторів у нормальному функціонуванні дихальної системи. Індивіди, у яких спостерігають знижену активність  $\beta$ 2-рецепторів, мають більший ризик розвитку клінічної картини БА через звуження бронхів. Ще одним вагомим доказом на користь асоціації порушень у гені  $\beta$ 2-адренорецептора із патогенезом БА є дані про високу ефективність терапії БА у дітей із використанням стимуляції  $\beta$ 2-агоністами [13–15]. При вивченні ефективності інгаляційної терапії  $\beta$ -агоністами у пацієнтів з астмою виявлено залежність між бронходилатацією та певними однонуклеотидними поліморфізмами гена *ADRB2* [12].

Зважаючи на вищевикладені дані, мета нашої роботи полягала в дослідженні асоціації поліморфних варіантів генів ферментів першої – *CYP1A1* (T6235C) та другої – *NAT2* (C481T, G590A, G857A), *GSTM1* («0»), *GSTT1* («0») і *GSTP1* (A313G) фаз системи детоксикації, а також гена *ADRB2* (C79G) з розвитком бронхіальної астми у дітей.

**Матеріали і методи.** Проаналізовано три групи індивідів. Дві досліджувані групи дітей, хворих на БА, представлено неспорідненими індивідами з двох регіонів України: Києва і Київської обл. (група обстеження I) та м. Дніпродзержинська Дніпропетровської обл. (група обстеження II). Згідно з опублікованою на сайті Державного комітету статистики України аналітичною доповіддю «Довкілля України у 2009 році», м. Дніпродзержинськ займає 8-ме місце серед міст України за антропогенним навантаженням від стаціонарних джерел забруднення з 110,8 тис. т. викидів шкідливих речо-

вин [23]. У той час як екологічний стан Києва і Київської обл. є суттєво кращим. Групи формували у 2008 і 2009 роках. Інформовану згоду на участь у дослідженні отримано від батьків кожного з учасників. Дане дослідження схвалено комітетами з біоетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України та ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України».

Групу обстеження I склали 52 пацієнти, серед яких 32 (61,5 %) індивіди чоловічої статі та 20 (38,5 %) індивідів жіночої статі. Група обстеження II включала 62 пацієнти, серед яких 43 (69,4 %) індивіди чоловічої статі та 19 (30,6 %) індивідів жіночої статі. Всього в цих двох групах з клінічним діагнозом БА обстежено 114 пацієнтів (75 (65,8 %) індивідів чоловічої статі та 39 (34,2 %) індивідів жіночої статі) віком від 3 до 18 років. Протягом декількох років пацієнти з обох дослідних груп мали встановлений діагноз БА та перед включенням у дослідження проходили уніфікований медичний огляд згідно з рекомендаціями МОЗ України та глобальної ініціативи з боротьби з бронхіальною астмою (Global Initiative for Asthma). За результатами клінічних обстежень та відповідно до симптомів, у всіх хворих дітей встановлено персистуючу БА середньої тяжкості у стадії клінічної ремісії. До контрольної групи увійшли 86 неспоріднених здорових дорослих індивідів з різних регіонів України (донори ооцитів, стан здоров'я і, зокрема, відсутність БА в анамнезі підтверджено результатами медогляду). Цю групу можна розглядати як репрезентативну для оцінки частоти поліморфізму ДНК в аутосомних генах [24, 25].

**Генотипування.** ДНК виділяли з лейкоцитів периферичної крові стандартним методом [26].

Поліморфні варіанти генів *CYP1A1* (T6235C) [27], *GSTP* (A313G) [28], *NAT2* (C481T, G590A і G857A) [29] та гомозигот за делеціями в генах *GSTM1* і *GSTT1* [29], а також поліморфних варіантів гена *ADRB2* (C79G) [30] детектували, як описано у відповідних роботах.

Дані обробляли статистично за допомогою програм MDR і OpenEpi та критерію Фішера і розрахунку відношення шансів odd ratio (OR) [31, 32].

**Результати і обговорення.** За результатами молекулярно-генетичного аналізу поліморфних варіантів генів ферментів першої – *CYP1A1* (T6235C)

та другої – *NAT2* (C481T, G590A, G857A), *GSTM1* («0»), *GSTT1* («0») і *GSTP1* (A313G) фаз системи детоксикації, а також гена *ADRB2* (C79G) у групах обстеження I і II та в контрольній групі отримано розподіл виявлених генотипів і алельних варіантів, представлений у табл. 1.

Варто зазначити відсутність статистично достовірних відмінностей у частоті генотипів за поліморфними варіантами генів *GSTM1*, *GSTT1* і *CYP1A1* між групами обстеження I, II та контрольною групою. Такі дані щодо відсутності асоціації гомозиготних делецій генів *GSTM1* і *GSTT1* з розвитком спадкової схильності до виникнення бронхолегеневих патологій (хронічного обструктивного захворювання легень у дорослих) отримано в роботі Горовенко та співавт. [7]. З іншого боку, у працях низки авторів виявлено асоціацію цих поліморфних варіантів з ризиком розвитку БА у дітей [17] та дорослих [10]. Крім того, в дослідженні, проведеному в Україні [5], встановлено зв'язок гомозиготної делеції гена *GSTT1* з розвитком спадкової схильності до БА у дорослих, у той же час не визначено асоціації гомозиготної делеції гена *GSTM1* з розвитком БА у дорослих. Подібні розбіжності свідчать про необхідність розширення складу досліджуваних і контрольних груп, залучених до експерименту. Потрібно відмітити, що отримані нами дані стосовно відсутності асоціації поліморфних варіантів гена *CYP1A1* узгоджуються з результатами, одержаними для інших поліморфних варіантів генів родини P-450 (*CYP2C19* і *CYP2E1*) [10].

Встановлено, що сумарна частота гетеро- та гомозиготних носіїв поліморфного алеля 313G гена *GSTP1* є статистично вірогідно вищою ( $P < 0,05$ ) як у групі обстеження I (51,9 %), так і в групі II (56,5 %) порівняно з контрольною (33,7 %). Таку ж закономірність спостерігали і для частот даного алеля у відповідних групах. За результатами розрахунку показників OR, визначено, що і для гетеро-, і для гомозиготних носіїв поліморфного алеля 313G гена *GSTP1* ризик розвитку БА у дітей збільшується у 2,5 разу (OR = 2,548, CI – 95 %: 1,3–4,93). Низкою досліджень встановлено, що даний фермент експресується в легенях та альвеолах [8, 17]. Також виявлено, що для ферменту GSTP1 існує декілька характерних особливостей, які відрізняють його від інших ферментів родини GST. Одна з них – це

Таблиця 1  
Розподіл генотипів і алельних варіантів у досліджуваних групах

Ген	Контрольна група, n = 86	Група обстеження I, n = 52	Група обстеження II, n = 62	Ген	Контрольна група, n = 86	Група обстеження I, n = 52	Група обстеження II, n = 62
<i>CYP1A1</i> (T6235C)				<i>NAT2</i> (C481T)			
Генотип, n (%)				Алель, n (частота)			
TT	72 (83,6)	44 (84,6)	46 (74,2)	F (C)	96 (0,558)	53 (0,509)	75 (0,605)
TC	12 (14)	8 (15,4)	14 (22,6)	*5 (T)	76 (0,442)	51 (0,491)	49 (0,395)
CC	2 (2,4)	0 (0)	2 (3,2)	<i>NAT2</i> (G590A)			
Алель, n (частота)				Генотип, n (%)			
T	156 (0,907)	96 (0,923)	106 (0,855)	F/F (GG)	34 (39,5)	26 (50,0)	24 (38,7)
C	16 (0,093)	8 (0,077)	18 (0,145)	F/*6 (GA)	46 (53,5)	23 (44,2)	34 (52,8)
<i>GSTP1</i> (A313G)				*6/*6 (AA)			
Генотип, n (%)				Алель, n (частота)			
AA	57 (66,3)	25 (48,1)	27 (43,5)	(G)	114 (0,663)	75 (0,721)	82 (0,661)
AG	24 (27,9)	22 (42,3)	32 (51,6)	*6 (A)	58 (0,337)	29 (0,279)	42 (0,339)
GG	5 (5,8)	5 (9,6)	3 (4,9)	<i>FNAT2</i> (G857A)			
AG + GG	29 (33,7)	27 (51,9)*	35 (56,5)*	Генотип, n (%)			
Алель, n (частота)				F/F (GG)			
A	138 (0,802)	72 (0,692)	86 (0,694)	F/*7 (GA)	7 (8,1)	6 (11,5)	2 (3,2)
G	34 (0,198)	32 (0,308)*	38 (0,306)*	*7/*7 (AA)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>GSTM1</i> («0»)				Алель, n (частота)			
Генотип, n (%)				F (G)			
+/+ і +/«0»	39 (45,3)	28 (53,8)	32 (51,6)	*7 (A)	7 (0,041)	6 (0,058)	2 (0,016)
«0»/«0»	47 (54,7)	24 (46,2)	30 (48,4)	<i>ADRB2</i> (C79G)			
<i>GSTT1</i> («0»)				Генотип, n (%)			
Генотип, n (%)				CC			
+/+ і +/«0»	39 (45,3)	28 (53,8)	32 (51,6)	CG	36 (41,9)	20 (38,5)	36 (58,1)
«0»/«0»	47 (54,7)	24 (46,2)	30 (48,4)	GG	12 (13,9)	11 (21,1)	7 (11,3)
<i>NAT2</i> (C481T)				CG + GG			
Генотип, n (%)				48 (55,8)			
F/F (CC)	20 (23,3)	14 (26,9)	23 (37,1)	Алель, n (частота)			
F/*5 (CT)	56 (65,1)	25 (48,1)	29 (46,8)	C	112 (0,651)	62 (0,596)	74 (0,597)
*5/*5 (TT)	10 (11,6)	13 (25,0)*	10 (16,1)	G	60 (0,349)	42 (0,404)	50 (0,403)

Примітка. n – кількість індивідів; \*статистично достовірна різниця (P < 0,05); *CYP1A1*: T – 6235T, C – 6235C; *NAT2*: F (C) – 481C, \*5 (T) – 481T, F (G) – 590G, \*6 (A) – 590A, F (G) – 857G, \*7 (A) – 857A; *GSTM1*: «0» (делеція) – «0»/«0», + (норма) – +/+ і «0»/+; *GSTT1*: «0» (делеція) – «0»/«0», + (норма) – +/+ і «0»/+; *GSTP1*: A – 313A, G – 313G; *ADRB2*: C – 79C, G – 79G.

відсутність просторових структур, які прикривають каталітичний центр, що робить його доступним для субстратів. Іншою відмінною рисою цього ферменту є подвійна природа Н-сайта – він є напівгідрофобним і напівгідрофільним [33]. Спираючись на вищевикладене, можна зробити висновок щодо високої концентрації даного ферменту в легенях, адже останні поряд з іншими органами системи дихання знаходяться на межі внутрішнього і зовнішнього середовищ організму, які першими постійно піддаються несприятливому впливу забруднювачів атмосферного повітря.

Таким чином, на основі власних результатів та літературних даних можна припустити, що підвищення частоти носіїв поліморфного варіанта 313G гена *GSTP1* корелює із зменшенням активності даного ферменту у пацієнтів з таким генотипом, внаслідок чого зростає рівень вільних радикалів. Останнє призводить до збільшення ризику виникнення оксидативного стресу у клітинах бронхолегеневої системи. Це, в свою чергу, є можливою передумовою патогенезу БА у дітей [34].

Показано, що частота гомозиготних носіїв поліморфного алеля 481T гена *NAT2* є статистично вірогідно вищою ( $P < 0,05$ ) в групі обстеження I (25 %) порівняно з контрольною групою (11,6 %). Тенденцію до зростання частоти індивідів з таким генотипом спостерігали в групі обстеження II (16,1 %). Фермент, який кодується геном *NAT2*, експресується в печінці та епітелії кишечника [10]. У наших дослідженнях та в роботах інших авторів виявлено, що близько 50 % європейців належать до так званих «повільних ацетиляторів» S1 (*NAT2*\*5) і S2 (*NAT2*\*6) [8–10, 17]. Це обумовлено мононуклеотидними замінами C481T і G590A. З іншого боку, серед представників монголоїдної раси особливо поширеним є алель S3 *G857A* (*NAT2*\*7) [27]. За результатами біохімічних досліджень визначено, що активність ферментів NAT у всіх «повільних ацетиляторів» знижена в середньому на 20 % порівняно з нормою («швидкими ацетиляторами») [17]. Отже, як і для поліморфного варіанта 313G гена *GSTP1*, менш функціонально активні форми ферменту гена *NAT2* можуть спричиняти зростання оксидативного стресу, який є одним із чинників БА у дітей [34]. Отримані нами результати і дані, одержані іншими дослідниками, свідчать на користь то-

го, що «повільне» ацетилювання є фактором підвищеного ризику розвитку БА у дітей [8–10, 18, 19].

При вивченні алельного поліморфізму послідовності гена *ADRB2* показано, що сумарна частота гетеро- та гомозиготних носіїв поліморфного варіанта 79G гена *ADRB2* є статистично вірогідно вищою ( $P < 0,05$ ) в групі обстеження II (69,4 %) порівняно з контрольною групою (55,8 %). Тенденцію до збільшення частоти таких генотипів також спостерігали в групі обстеження I (59,6 %). У деяких працях виявлено, що  $\beta$ 2-адренорецептори відіграють важливу роль у розширенні бронхів та причетні до протизапальних реакцій [16].

Показано, що досліджуваний нами поліморфний варіант Gln  $\rightarrow$  Glu (C79G) у кодоні 27 *ADRB2*-гена зумовлює зміну просторової структури екстрацелюлярного домену рецептора, в результаті чого знижується його функціональна здатність.

Зважаючи на те, що  $\beta$ 2-адренорецептори локалізовані практично на всіх клітинах імунної відповіді, індивіди з такими поліморфними алелями, можливо, є чутливішими до алергенів та, як наслідок, до розвитку алергії і запалень різного характеру. На користь цього свідчать отримані нами дані стосовно підвищення частоти носіїв поліморфного варіанта 79G гена *ADRB2* у групі пацієнтів, що мешкають в антропогенно забрудненішому Дніпродзержинську, у порівнянні з контрольною групою і групою пацієнтів з Києва.

Для аналізу можливого кумулятивного ефекту поліморфних варіантів 313G, 481T і 79G генів *GSTP1*, *NAT2* і *ADRB2*, частота яких статистично вірогідно переважає в групах дітей, хворих на БА, вивчали індивідів з генотипами, до складу яких входять саме ці поліморфні варіанти. Результати аналізу розподілу таких генотипів в групах обстеження та контрольній групі наведено в табл. 2.

Знайдено, що частота індивідів з генотипами, до складу яких входять поліморфні варіанти 313G, 481T і 79G генів *GSTP1*, *NAT2* і *ADRB2* та їхні комбінації, є статистично вірогідно вищою ( $P < 0,05$ , OR = 3,28, CI – 95 %: 1,215–8,474) в групі обстеження II (90,3 %) порівняно з контрольною групою (74,4 %). Тенденцію до збільшення частоти цих генотипів спостерігали в групі обстеження I (84,6 %).

Отримані нами дані дозволяють припустити, що внаслідок зниження активності ферментів

Таблиця 2

Розподіл генотипів з різними комбінаціями алельних варіантів генів *GSTP1*, *NAT2* та *ADRB2* у досліджуваних групах

№ комбінації	Генотип			Контрольна група, <i>n</i> = 86		Група обстеження I, <i>n</i> = 52		Група обстеження II, <i>n</i> = 62	
	<i>NAT2*5</i>	<i>GSTP1</i>	<i>ADRB2</i>	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
1	CC	AA	CC	3	3,5	3	5,8	2	3,2
2	CT	AA	CC	19	22,1	5	9,6	4	6,5
3	CC	AA	CG	7	8,1	3	5,8	4	6,5
4	CC	AA	GG	3	3,5	2	3,8	1	1,6
5	CC	AG	CC	1	1,2	1	1,9	8	12,9
6	CC	AG	CG	3	3,5	3	5,8	4	6,5
7	CC	AG	GG	2	2,3	1	1,9	2	3,2
8	CC	GG	CC	0	0	0	0	2	3,2
9	CC	GG	CG	0	0	1	1,9	0	0
10	CC	GG	GG	1	1,2	0	0	0	0
11	CT	AA	CG	16	18,6	4	7,7	10	16,1
12	CT	AA	GG	2	2,3	1	1,9	1	1,6
13	CT	AG	CC	7	8,1	6	11,5	2	3,2
14	CT	AG	CG	6	7	2	3,8	9	14,5
15	CT	AG	GG	3	3,5	4	7,7	2	3,2
16	CT	GG	CC	2	2,3	1	1,9	0	0
17	CT	GG	CG	1	1,2	1	1,9	1	1,6
18	CT	GG	GG	0	0	1	1,9	0	0
19	TT	AA	CC	3	3,5	2	3,8	0	0
20	TT	AA	CG	3	3,5	4	7,7	5	8,1
21	TT	AA	GG	1	1,2	1	1,9	0	0
22	TT	AG	CC	2	2,3	2	3,8	1	1,6
23	TT	AG	CG	0	0	2	3,8	3	4,8
24	TT	AG	GG	0	0	1	1,9	1	1,6
25	TT	GG	CC	1	1,2	1	1,9	0	0
26	TT	GG	CG	0	0	0	0	0	0
27	TT	GG	GG	0	0	0	0	0	0
28	TT/AG + GG/CG + GG			64	74,4	44	84,6	56*	90,3
29	CC + CT/AA/CC			22	25,6	8	15,4	6	9,7

Примітка. *n* – кількість індивідів, \*статистично достовірна різниця ( $P < 0,05$ ); *NAT2*: C – 481C, \*5 (T) – 481T; *GSTP1*: A – 313A, G – 313G; *ADRB2*: C – 79C, G – 79G.

GSTP1 і NAT2 [8, 17, 33, 34] можуть відбуватися морфофункціональні зміни тканин бронхолегеневої системи, зумовлені оксидативним стресом, спричиненим надлишком активних форм кисню і вільних радикалів. У носіїв поліморфного варіанта 79G гена *ADRB2* до цих процесів можуть приєднуватися ще й такі патологічні складові БА у дітей, як модульована імунна відповідь та гіпертонус тканин бронхолегеневої системи [16, 33, 34].

Таким чином, можна зробити висновок стосовно того, що поліморфні варіанти 313G, 481T і 79G генів *GSTP1*, *NAT2* і *ADRB2* та їхні комбінації в генотипі є факторами підвищеного ризику розвитку БА у дітей.

Лімітуючим аспектом виконаної роботи є відсутність додаткової контрольної групи, яка має складатися із здорових дітей, які б за віком та статевим складом відповідали групам обстеження. Наші подальші дослідження будуть спрямовані на порівняльний молекулярно-генетичний аналіз поліморфних варіантів у дітей з БА та вищезазначеній додатковій контрольній групі для поглибленої перевірки знайдених закономірностей.

Вивчення алельних варіантів підвищеного ризику розвитку БА у дітей та їхніх комбінацій з урахуванням впливу факторів середовища і сімейного анамнезу дозволить виявляти осіб з високим ризиком розвитку БА.

*P. F. Tatarskyi<sup>1</sup>, N. G. Chumachenko<sup>4</sup>, A. M. Kucherenko<sup>1, 2</sup>, R. V. Gulkovskiy<sup>1, 2</sup>, L. P. Arabskaya<sup>3</sup>, O. A. Smirnova<sup>3</sup>, S. I. Tolkach<sup>3</sup>, Yu. G. Antipkin<sup>3</sup>, L. A. Livshits<sup>1</sup>*

Study of possible role of *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *NAT2* and *ADRB2* genes polymorphisms in bronchial asthma development in children

<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine  
150, Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, Ukraine, 03680

<sup>2</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv  
64, Volodymyrska Str., Kyiv, Ukraine, 01033

<sup>3</sup>State Enterprise «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology» NAMS of Ukraine  
8, Manuil'skoho Str., Kyiv, Ukraine, 04050

<sup>4</sup>Town hospital N 9  
72, Anoshkina Str., Dniprodzerzhyn'sk, Ukraine, 51934

Summary

**Aim.** To study the association of polymorphisms of the enzymes genes *CYP1A1* (T6235C), first phase, and *NAT2* (C481T, G590A,

G857A), *GSTM1* («0»), *GSTT1* («0») and *GSTP1* (A313G), second phase of the detoxication system, as well as the *ADRB2* (C79G) gene variants with the development of bronchial asthma in children. **Methods.** Polymorphic variants were analyzed using PCR followed by RFLP analysis in 86 healthy individuals and in 114 patients with clinical diagnosis of bronchial asthma. **Results.** The frequency of gene polymorphic variants of the enzymes of first and second phases of detoxication system as well as the *ADRB2* gene was established in the children with bronchial asthma and healthy individuals. **Conclusions.** Polymorphic variants of the genes *NAT2* (481T), *GSTP1* (313G) and *ADRB2* (79G) and their combinations in genotype were observed more frequently in the patients with bronchial asthma comparing to the control group, which indicates their involvement in the pathogenesis of asthma in children.

**Keywords:** bronchial asthma, detoxication system,  $\beta$ 2-adrenoreceptor gene, polymorphism, combined genotype.

*П. Ф. Татарський, Н. Г. Чумаченко, А. М. Кучеренко, Р. В. Гулковський, Л. П. Арабская, О. А. Смирнова, С. І. Толкач, Ю. Г. Антипкин, Л. А. Лившиц*

Исследования возможной роли полиморфизма генов *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *NAT2* и *ADRB2* в развитии бронхиальной астмы у детей

Резюме

**Цель.** Исследовать ассоциацию полиморфных вариантов генов ферментов первой – *CYP1A1* (T6235C) и второй – *NAT2* (C481T, G590A, G857A), *GSTM1* («0»), *GSTT1* («0») и *GSTP1* (A313G) фаз системы детоксикации, а также гена *ADRB2* (C79G) с развитием бронхиальной астмы (БА) у детей. **Методы.** Полиморфные варианты изучали с помощью ПЦР и ПДРФ-анализа у 86 здоровых индивидов и 114 пациентов с клиническим диагнозом БА. **Результаты.** Установлена частота полиморфных вариантов генов ферментов первой и второй фаз системы детоксикации, а также гена *ADRB2* у больных БА детей и здоровых индивидов. **Выводы.** Полиморфные варианты генов *NAT2* (481T), *GSTP1* (313G) и *ADRB2* 79G и их комбинации в генотипе чаще наблюдаются среди пациентов с БА по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует в пользу их вовлечения в патогенез БА у детей.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, система детоксикации, ген  $\beta$ 2-адренорецептора, полиморфизм, комбинированный генотип.

## ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ipatov A. V., Sergieni O. V., Panina S. S., Voytchak T. G., Gondulenko N. O. Epidemiologic, medical and social aspects of disability due to asthma in Ukraine // Ukrain's'kiy pul' monologichnyi Zhur.–2004.–N 3.–P. 23–26.
2. Gruber C., Meinlschmidt G., Bergmann R., Wahn U., Stark K. Is early BCG vaccination associated with less atopic disease? An epidemiological study in German preschool children with different ethnic backgrounds // *Pediatr. Allergy Immunol.*–2002.–13, N 3.–P. 177–181.
3. Neyko E. M., Chernyuk N. V., Yakovina I. M. Metodychni pidkhody do otsinky effektivnosti likuvannya bronchial'noi astmy // *Imunologiya ta Alergologiya.*–2000.–2–3.–P. 61.
4. World Health Organization. Bronchial asthma. Fact Sheet NE 307.–Geneva: World Health Organization, 2008.

5. *Ebrahimi M., Podolskaya S. V., Gorovenko N. G.* Genetical polymorphisms glutation-S-transferases M1 and T1 among bronchial asthma patients in Ukraine // The collection of scientific works of the staff members of P. L. Shupyk KMAPE.–2004.–5, N 13.–P. 327–333.
6. *Chernyuk N. V.* Dynamika osnovnykh kryteriiv yakosti zhit'tya u khvorykh na bronchial'nu astmu ta vstanovlennya efektyvnosti likuvannya // Bukovyns'kyi Medychnyi Visnyk.–2001.–N 1.–P. 125–129.
7. *Gorovenko N. G., Podolskaya S. V., Chernjuk N. V.* Determination of molecular-genetic markers of hereditary susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease // Ukrain's'kyi Pul'monologichnyi Zhur.–2009.–N 4.–P. 13–16.
8. *Korytina G. F., Iaibaeva D. G., Viktorova T. V.* Polymorphism of glutathione-S-transferase M1 and P1 genes in patients with cystic fibrosis and chronic respiratory tract diseases // Genetika.–2004.–40, N 3.–P. 401–408.
9. *Makarova S. I., Vavilin V. A., Chasovnikova O. B., Gavalov S. M., Ryabova O. A., Lyachovich V. V.* Effect of age and gender on susceptibility to bronchial asthma in children with different GSTM1, GSTT1 and NAT2 genotypes// Pul'monologiya.–2002.–15.–P. 46–52.
10. *Bragina E. Yu., Freidin M. B., Ten I. A., Ogorodova L. M.* Polymorphism of xenobiotic metabolism genes of the glutathione S-transferase (*GSTT1*, *GSTM1*) and cytochrome P450 (*CYP2E1* and *CYP2C19*) in patients with atopic bronchial asthma // Byulleten' Sibirskogo Otdeleniya Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk.–2005.–13.–P. 121–125.
11. *Lasizya O. L., Ochotnikova O. M.* Bronchial'na astma u ditey: problemy i perspektyvy diagnostyky ta likuvannya // Nova Medytsyna.–2003.–6.–P. 44–49.
12. *Liggett S. B.* Polymorphisms of the  $\beta$ 2-adrenergic receptor and asthma // Am. J. Respir. Crit. Care Med.–1997.–156, N 4.–P. S156–162.
13. *Perkins G. D., McAuley D. F., Richter A., Thickett D. R., Gao F.* Bench-to-bedside review:  $\beta$ 2-agonists and the acute respiratory distress syndrome // Crit. Care.–2004.–8, N 1.–P. 25–32.
14. *Maestroni G. J.* Sympathetic nervous system influence on the innate immune response // Ann. N. Y. Acad. Sci.–2006.–1069.–P. 195–207.
15. *Sanders V. M.* Interdisciplinary research: noradrenergic regulation of adaptive immunity // Brain Behav. Immunol.–2006.–20, N 1.–P. 1–8.
16. *Israel E., Drazen J. M., Liggett S. B., Boushey H. A., Cherniack R. M., Chinchilli V. M., Cooper D. M., Fahy J. V., Fish J. E., Ford J. G., Kraft M., Kunselman S., Lazarus S. C., Lemanske R. F. Jr., Martin R. J., McLean D. E., Peters S. P., Silverman E. K., Sorkness C. A., Szeffler S. J., Weiss S. T., Yandava C. N.* Effect of polymorphism of the beta(2)-adrenergic receptor on response to regular use of albuterol in asthma // Int. Arch. Allergy Immunol.–2001.–124, N 1–3.–P. 183–186.
17. *Baranov V. S., Baranova E. V., Ivaschenko T. E., Aseev M. V.* Human genome and «predisposition» genes (Introduction into predictive medicine).–St. Petersburg: Intermedika, 2002.–272 p.
18. *Khuzina A., Karunas A., Biktasheva A., Yuldasheva A., Etkina E., Khusnutdinova E.* The study of genetic susceptibility to allergic rhinitis in Volga–Ural region of Russia // Eur. Respir. J.–2007.–Suppl. 1.–P. 536.
19. *Kolesnichenko L. S., Kulinskiy V. I.* Glutationtransferazy // Uspekhi Sovremennoy Biologii.–1989.–107, N 2.–P. 179–194.
20. *Awasthi Y. C., Sharma R., Singhal S. S.* Human glutathione S-transferases // Int. J. Biochem.–1994.–26, N 3.–P. 295–308.
21. *Williams R. T.* Comparative patterns of drug metabolism // Fed. Proc.–1967.–26, N 4.–P. 1029–1039.
22. *Zusterzeel P. L., Peters W. H., de Bruyn M. A., Knapen M. F., Merkus H. M., Steegers E. A.* Glutathione S-transferase isoenzymes in decidua and placenta of preeclamptic pregnancies // Obstet. Gynecol.–1999.–94, N 6.–P. 1033–1038.
23. *SSC of Ukraine, Statistical publication Environment of Ukraine.*–Kyiv, 2009.–270 p.
24. *Cordell H. J., Clayton D. G.* Genetic association studies // Lancet.–2005.–366, N 9491.–P. 1121–1131.
25. *Balding D. J.* A tutorial on statistical methods for population association studies // Nat. Rev. Genet.–2006.–7, N 10.–P. 781–791.
26. *Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J.* Molecular cloning: a laboratory manual.–New York: Cold Spring Harbor Lab. publ., 1982.–545 p.
27. *Wu M. T., Ho C. K., Huang S. L., Yeh Y. F., Liu C. L., Mao I. F., Christiani D. C.* Modulating influence of cytochrome P-450 MspI polymorphism on serum liver function profiles in coke oven workers // Occup. Environ. Med.–1999.–56, N 3.–P. 159–163.
28. *Zusterzeel P. L., Nelen W. L., Roelofs H. M., Peters W. H., Blom H. J., Steegers E. A.* Polymorphism in biotransformation enzymes and the risk for recurrent early pregnancy loss // Mol. Hum. Reprod.–2000.–6, N 5.–P. 474–478.
29. *Livshyts H. B., Kravchenko S. A., Tatarskyi P. F., Sudoma I. A., Livshits L. A.* Molecular-genetic analysis of natural and stimulated ovulation impairment // Cytology and Genetics.–2008.–42, N 2.–P. 63–69.
30. *Littlejohn M. D., Taylor D. R., Miller A. L., Kennedy M. A.* Determination of beta2-adrenergic receptor (ADRB2) haplotypes by a multiplexed polymerase chain reaction assay // Hum. Mutat.–2002.–20, N 6.–P. 479.
31. *Moore J. H.* Computational analysis of gene-gene interactions using multifactor dimensionality reduction // Expert Rev. Mol. Diagn.–2004.–4, N 6.–P. 795–803.
32. *Sullivan K. M., Dean A., Soe M. M.* OpenEpi: a web-based epidemiologic and statistical calculator for public health // Public Health Rep.–2009.–124, N 3.–P. 471–474.
33. *Slonchak A. M., Obolenska M. Yu.* Structure and functions of glutathione S-transferase P1-1 // Ukr. Biokhim. Zhur.–2009.–81, N 1.–P. 5–13.
34. *Volkov I. K.* Antioksidantnaya terapiya pri chronicheskikh zabolevaniyach legkikh u detey // Pediatriya (pril. k zhurnalu «Consilium Medicum»).–2007.–1.–P. 43–44.

UDC 575.11 + 577.21

Received 06.09.10