

## РИСК РАЗВИТИЯ НЕЙТРОФИЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ БРОНХОВ У ДЕТЕЙ, БОЛЕЮЩИХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, ПРИ ДЕЛЕЦИОННОМ ПОЛИМОРФИЗМЕ ГЕНОВ *GSTT1* И *GSTM1*

Галущинская А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Буковинский государственный медицинский университет, кафедра педиатрии и детских инфекционных болезней, Черновцы, Украина (58000, г. Черновцы, ул. Русская 207а) e-mail: [pEDIATRY\\_inf@bsmu.edu.ua](mailto:pEDIATRY_inf@bsmu.edu.ua)*

В работе исследована взаимосвязь полиморфизма генов *GSTT1* и *GSTM1* с характером воспаления бронхов у детей, болеющих бронхиальной астмой. Установлено, что у пациентов с нейтрофильным характером воспаления дыхательных путей чаще встречается делеционный полиморфизм *GSTM1*, в то время как для детей с пауцигранулоцитарным вариантом воспаления бронхов характерный генотип *T+M+*, а для эозинофильного – одинаковое распределение генотипов *GSTT1* и *GSTM1*. При сочетании делеционного полиморфизма у одной из субпопуляций GST или в обоих генах (*T1delM1+*, *T1+M1del*, *T1delM1del*) установлен достоверный риск реализации нейтрофильного типа воспаления бронхиального дерева у детей, болеющих бронхиальной астмой (ОР=1,6, 95%ДИ: 1,3-2,0 при AP=0,21).

Ключевые слова: нейтрофильный характер воспаления бронхов, бронхиальная астма, полиморфизм генов *GSTT1* и *GSTM1*.

## THE RISK OF NEUTROPHILIC BRONCHI INFLAMMATION DEVELOPING AMONG CHILDREN AFFECTED BY BRONCHIAL ASTHMA AND DELETION POLYMORPHISM OF *GSTT1* AND *GSTM1* GENES

Galuschinskaya A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Bukovinian State Medical University, Department of Pediatrics and Children's Infections Diseases, Chernivtsi, Ukraine (58000, Chernivtsi, street Russkaya, 207 a) e-mail: [pEDIATRY\\_inf@bsmu.edu.ua](mailto:pEDIATRY_inf@bsmu.edu.ua)*

In this work the connection of polymorphism of *GSTT1* and *GSTM1* genes and the nature of bronchial inflammation among children, who suffer from bronchial asthma is researched. It was ascertained that patients with neutrophilic character of inflammation are more frequently to be observed with deletion polymorphism of *GSTM1*, whereas those with paucygranulocytary variant of inflammation are characterized by genotype *T+M+*, and eosinophilic – with equal distribution of *GSTT1* and *GSTM1* genotypes. When combining deletion polymorphism in one of the GST subpopulations or in both genes (*T1delM1+*, *T1+M1del*, *T1delM1del*) is was established the probable risk of neutrophilic type inflammation of the bronchial tree among children who suffer from asthma (RR=1,6, 95%CI: 1,3-2,0 in AR=0,21).

Keywords: neutrophilic nature of the bronchi inflammation, bronchial asthma, polymorphism of *GSTT1* and *GSTM1* genes.

### Введение

Местное воспаление бронхов при бронхиальной астме (БА) характеризуется своей гетерогенностью и требует индивидуального подхода к лечению. Различают эозинофильный, нейтрофильный и пауцигранулоцитарный характер воспаления дыхательных путей (ХВДП) [1, 2].

Гетерогенность воспалительного процесса при БА в некоторой степени определяется генетическим компонентом, который формирует способность дыхательных путей защищать себя от вдыхаемых патогенных веществ, поступающих из внешней среды. Детоксикация чужеродных соединений осуществляется с помощью целого класса ферментов – глутатион-S-трансфераз (GST) [3]. В популяциях человека отличаются генетическим полиморфизмом *GSTT1* и *GSTM1*, которые связаны с делециями значительных фрагментов обоих генов, что

превращает их в функционально неполноценные (ноль-аллели *T1del* и *M1del*), вследствие потери ферментативной активности определенной изоформы [4]. Нарушения ферментной активности GST снижает их детоксикационную функцию и приводит к накоплению в организме ксенобиотиков, в частности в бронхах. Это предопределяет активацию эффекторных клеток местной защиты дыхательных путей, (эозинофилов и нейтрофилов) и их накопления.

Исследование взаимосвязи полиморфизма генов *GSTT1* и *GSTM1* с характером реакции бронхов на сегодняшний день недостаточно изучено и актуально.

**Цель работы:** изучить риск формирования нейтрофильного характера воспаления бронхов у детей, болеющих бронхиальной астмой, при делеционном полиморфизме генов *GSTT1* и *GSTM1*.

**Материал и методы исследования.** В пульмоаллергологическом отделении ОДКБ г. Черновцы обследовано 102 ребенка школьного возраста, болеющих БА. ХВДП определяли за результатами цитологического анализа индуцированной мокроты, полученного методом ингаляций серийных разведений гипертонических растворов (3 %, 5 %, 7 %) натрия хлорида по методу Pavord I.D. [5]. Эозинофильный тип воспаления верифицировали по наличию в мокроте 3 % и больше клеток. Нейтрофильный характер воспаления определяли количеством нейтрофильных клеток  $\geq 59$  % и эозинофильных меньше 3 %. Пауцигранулоцитарную группу составили пациенты с содержанием в мокроте нейтрофильных гранулоцитов меньше 59 % и эозинофильных – меньше 3 %.

Выявление полиморфизма *GSTT1* и *GSTM1* осуществляли методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализировали методом электрофореза в 2 % агарозном геле [6]. Делецию генов *GSTT1* и *GSTM1* обозначали как *T1del* и *M1del*. Гомо- или гетерозиготность по нормальной копии гена – *T1+* и *M1+*.

По результатам цитологического исследования мокроты сформировано 3 клинических группы наблюдения. Первую клиническую группу (I) составили 46 пациентов (45 %) с эозинофильным ХВДП, вторую (II) – 33 ребенка (32,5 %) с нейтрофильным воспалительным фенотипом бронхиальной астмы и третью (III), сравнительную, сформировали 23 пациента (22,5 %) с пауцигранулоцитарным вариантом воспаления бронхов.

По основным клиническим характеристикам группы сравнения достоверно не отличались.

Полученные результаты исследования анализировали с использованием параметрических и непараметрических методов вычисления, учитывая оценку достоверности разницы показателей за коэффициентом Стьюдента. О достоверности реализации события судили по величине относительного риска (ОР), соотношения шансов (СШ) и атрибутивного риска (АР).

**Результаты исследования и их обсуждение.** По результатам ПЦР установлен генетический дефект в структуре гена *GSTT1* у 21,7 % детей I клинической группы, 21,2 % лиц – II группы и 26 % пациентов – III сравнительной группы ( $P>0,05$ ). Делеционный полиморфизм *GSTM1* достоверно чаще определялся у детей с нейтрофильным вариантом воспаления ДП. Так, генотип *GSTMdel* в I группе встречался у 15 детей из 46 ( $32,6\pm 6,9$  %), во II группе – у 17 из 33 пациентов ( $51,5\pm 8,7$  %) и в III сравнительной группе данный генотип регистрировался у 5 лиц из 23 ( $21,7\pm 8,6$  %,  $P$  II: I,III $<0,05$ ).

Исследуя генетические пороки в системе ДНК GST, считаем целесообразным проанализировать влияние ассоциаций генов *GSTT1* и *GSTM1* (*T1+M1+*; *T1del M1+*; *T1+M1del*; *T1del M1del*) на формирование воспалительного процесса в бронхах у детей, болеющих БА. (табл. 1).

Таблица 1

**Частота генотипов *GSTT1* и *GSTM1* у детей с разным характером воспаления бронхов**

Клинические группы (ХВДП)	Количество больных, n	Распределение генотипов <i>GSTT1</i> и <i>GSTM1</i>							
		<i>T1+M1+</i>		<i>T1delM1+</i>		<i>T1+M1del</i>		<i>T1del M1del</i>	
		A	Б	A	Б	A	Б	A	Б
Эозинофильный	46	23	50	8	17,4	13	28,3	2	4,3
Нейтрофильный	33	12	36,4	4	12,1	14	42,4	3	9
Пауцигранулоцитарный	23	14	60,9	4	17,4	3	13	2	8,7
$P$		I:II $<0,05$ II:III $<0,05$		$>0,05$		I:III $<0,05$ II:III $<0,05$		$>0,05$	

Примечание: А – абсолютное количество пациентов; Б – % процент от общего числа пациентов.

Распространение генотипов *GSTT1* и *GSTM1* у детей с разным вариантом воспаления бронхов характеризовалось преимущественно отсутствием делеционного полиморфизма GST среди детей с пауцигранулоцитарным воспалительным фенотипом. У пациентов II клинической группы чаще определялась делеция *GSTM1*. Для больных с эозинофильным ХВДП присуще одинаковое распределение нормального и нефункционального генотипов *GSTT1* и *GSTM1*.

Наличие сочетания делеционного полиморфизма *GSTT1* и *GSTM1* характеризовалось достоверным риском формирования нейтрофильного типа воспаления. Так, относительный риск (OR) развития нейтрофильного варианта воспаления бронхов при наличии ассоциации генов GST (*T1delM1+*, *T1+M1del*, *T1delM1del*) представлял 1,6 (95 % ДИ 1,3-2,0) при соотношении шансов 2,5 (95 % ДИ 1,3-4,4) и абсолютном риске (AR) – 0,21.

Выявленные нарушения ферментативной активности *GSTM1* и *GSTT1* приводят к понижению скорости детоксикации ксенобиотиков и эндогенных субстратов, накоплению токсических веществ в организме, стимулируя работу определенных систем организма для поддержания постоянства гомеостаза, в частности местной защиты в бронхах. Можно считать, что нейтрофилы, как основные клетки, принимающие участие в элиминации чужеродных агентов, накапливаются при этом в стенках бронхов, приводя к их ремодуляции и повышенной реактивности дыхательных путей при БА [7, 8].

Таким образом, установлено, что при сочетанном полиморфизме генов *GSTM1* и *GSTT1* существует риск развития нейтрофильного характера воспаления бронхов.

#### **Выводы:**

1. У детей с нейтрофильным характером воспаления дыхательных путей чаще встречался делеционный полиморфизм *GSTM1*, в то время как для пациентов с пауцигранулоцитарным вариантом воспаления бронхов характерный генотип *T+ M+*, а для эозинофильного – одинаковое распределение генотипов *GSTT1* и *GSTM1*.
2. При сочетании делеционного полиморфизма в одной из субпопуляций GST или в обоих генах (*T1delM1+*, *T1+M1del*, *T1delM1del*) установлен достоверный риск реализации нейтрофильного типа воспаления бронхиального дерева у детей, болеющих бронхиальной астмой (OR=1,6, 95 % ДИ: 1,3-2,0 при AP=0,21).

#### **Список литературы**

1. Выделение ДНК из крови // Практическая молекулярная биология – [Электронный ресурс] - <http://molbiol.edu.ru>.
2. Когосова Л.С. Роль еозинофильних і нейтрофільних гранулоцитів крові і харкотиння в реалізації запального процесу при бронхіальній астмі різного генезу / Л.С. Когосова, Ю.О. Матвієнко, Ф.І. Новосад // Український пульмонологічний журнал. – 2003. – № 4. – С. 37-41.
3. Kudo M. Pathology of asthma / M. Kudo, Y. Ishigatsubo, I. Aoki // J Front Microbiol. – 2013. – Vol. – 10. – P. 4-263.
4. Large-Scale Consortium-Based Genomwide Association Study of Asthma // N Engl J Med. - 2010. – Nom. 363. – P. 1211-21.
5. Lemièrè C. Airway inflammation assessed by invasive and noninvasive means in severe asthma: eosinophilic and noneosinophilic phenotypes / C. Lemièrè, P. Ernst, R. Olivenstein [et al.] // J Allergy Clin Immunol. – 2006. – Vol. 118 (5). – P. 1033-9.
6. Pavord I.D. Asthma phenotypes / I.D. Pavord // J Semin Respir Crit Care Med. – 2012. – Vol. 33(6). – P. 645-52

7. Saadat M. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase T1, M1 and asthma, a meta-analysis of the literature (abstract) / M. Saadat // J. Biol Sci. – 2007. – Nom. 10. – Vol. 4183-9/
8. Wilce M.C., Parker M.W. (1994). Structure and function of glutathione S-transferases. Biochim. Biophys. Acta – Vol. 1205 (1). P. 1-18.

**Рецензенты:**

Сорокман Т.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой педиатрии и медицинской генетики Буковинского государственного медицинского университета Украины, г.Черновцы.

Сидорчук И.И., д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и эндокринологии Буковинского государственного медицинского университета Украины, г. Черновцы.