

УДК: 616.248-053.2-085.281:575

## ОСОБЕННОСТИ ДЕЗОБСТРУКТИВНОЙ ТЕРАПИИ В ПРИСТУПНОМ ПЕРИОДЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ С ДЕЛЕЦИОННЫМ ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНОВ $GSTT_1$ И $GSTM_1$

Микалюк Л.В., Галущинская А.В.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

*Исходя из современных данных литературы, роль системы детоксикации в течении бронхиальной астмы у детей и особенностях лечения её приступов изучена недостаточно. С целью повышения эффективности дезобструктивной терапии в зависимости от генотипических характеристик функционирования 2 фазы системы детоксикации ксенобиотиков обследовано 118 школьников. Показано, что отсутствие делеций в генах  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$  ассоциировало с более тяжёлым течением приступного периода и несколько более агрессивной тактикой дезобструктивной терапии.*

**Ключевые слова:** дети, бронхиальная астма, делеционный полиморфизм генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$

### Введение

Бронхиальная астма в последние годы приобрела черты одного из самых распространенных хронических заболеваний детского возраста [10], сопряженного с широким кругом нерешенных медико-социальных проблем. Важнейшая из них - это недостаточная эффективность протокольного регламентированного лечения, положенного в основу приказов министерства и международных согласительных документов. Так, контроль заболевания с формированием полной клинической ремиссии достигается не более чем у 20% детей, а отсутствие целевой эффективности лечебно-профилактических мероприятий имеет место у каждого пятого ребенка. Такая недостаточная эффективность патогенетически обоснованных стандартных лечебно-профилактических мероприятий при астме может объясняться широким спектром фенотипической гетерогенности [5, 8], а также генетически обусловленными особенностями организма [3].

Так, многочисленные научные обзоры сейчас систематизируют накопленные данные о генах - кандидатах и модификаторах [1, 6, 7], влияющих на течение заболевания. В частности, к генам-«модификаторам», определяющим предрасположенность к развитию астма-синдрома, относят гены системы детоксикации [2, 4, 9], гены мембранных рецепторов, гены, ответственные за синтез интерлейкинов и т.п.

Наше внимание привлекли гены «предрасположенности» (гены внешнесредовых воздействий), которые кодируют белки глутатион-S-трансферазной активности ( $GSTT_1$  и  $GSTM_1$ ), известные как энзимы 2-й фазы детоксикации ксенобиотиков [9]. Глутатион-S-трансферазы – мультигенное семейство ферментов, которые участвуют в детоксикации большого числа электрофильных ксенобиотиков путем их конъюгации с глутатионом [1]. Синтез глутатион-S-трансфераз контролируется генами, для каждого из которых описаны полиморфизмы. Наличие того или иного аллельного варианта может определять различия в метаболизме экзогенных соединений, или рассматриваться в качестве фактора предрасположенности к патологическим состояниям.

Гены семейства глутатион-S-трансферазы широко представлены в клетках дыхательных путей, и в связи с этим их делеционный полиморфизм может приводить к развитию воспаления бронхов под влиянием неблагоприятных внешних факторов. При потере каталитической активности (нулевом генотипе) возрастает чувствительность к ксенобиотикам [1], что проявляется возникновением или

модификацией течения различных заболеваний дыхательных путей. Однако вопрос эффективности лечения бронхиальной астмы при наличии делеционного полиморфизма генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$  у детей в настоящее время освещен недостаточно.

### Материалы и методы

В условиях пульмо-аллергологического отделения Областной детской клинической больницы г.Черновцы (Украина) в соответствии с принципами биоэтики проведено комплексное обследование 118 школьников, страдающих бронхиальной астмой (БА), госпитализированных в связи с обострением заболевания. Всем детям проведено молекулярно-генетическое исследование, которое позволило установить наличие делеционного полиморфизма генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$ . Определение делеций в генах глутатион-S-трансферазы  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$  проведено методом мультиплексной полимеразной цепной реакции, в качестве положительного контроля успешности реакции использовали амплификацию фрагментов гена BRCA1. Для визуализации фрагментов ДНК гель окрашивали этидия бромидом и фотографировали в ультрафиолетовом свете на установке GelDoc 2000 (BioRad, США). Для определения длины полученных фрагментов их электрофоретическую подвижность сравнивали с подвижностью ДНК-маркера Gene Ruler DNA Leader Mix (Fermentas, Литва). Ожидаемые длины фрагментов ДНК (431 нп для  $GSTT_1$  и 120 нп для  $GSTM_1$ ) рассчитывали с помощью пакета программ компьютерной обработки данных DNASTAR с использованием последовательностей генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$ , имеющихся в базе данных Genbank. Гомозиготные формы с делецией обеих копий генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$  идентифицировали при отсутствии соответствующего фрагмента на электрофореграмме и обозначали как  $T_1^-$  и  $M_1^-$ . Наличие этих фрагментов на электрофореграммах свидетельствовало о гомоили гетерозиготности по нормальной копии гена и генотип таких пациентов обозначали как  $T_1^+$  и  $M_1^+$ .

В зависимости от результатов детей распределили на 2 клинические группы. Первую из них (1 группа) сформировали 52 школьника, получавших лечение по поводу приступа БА, отличавшихся полноценным генотипом  $GSTT_1^+M_1^+$ . Средний возраст представителей данной группы достигал  $10,12 \pm 0,42$  года (95% ДИ: 9,28-10,95 лет), мальчиков было 69,23%, девочек, соответственно, 30,77%. Вторую группу сравнения сформировали 66 ровесников с установленным делеционным полиморфизмом изученных

генов, а их генотип определялся как  $GSTT_1-M_1-$ ,  $GSTT_1-M_1+$  или  $GSTT_1-M_1-$ . Средний возраст данных больных составил  $10,79 \pm 0,38$  года (95% ДИ: 10,04-11,53 лет), распределение мальчиков и девочек составило 63,64% и 36,36%, соответственно (во всех случаях  $P > 0,05$ ). Средняя продолжительность заболевания БА у детей 1 группы достигала  $5,08 \pm 0,44$  года, 2 группы -  $5,36 \pm 0,41$  года ( $P > 0,05$ ), а дебют заболевания до достижения трехлетнего возраста определялся у 40,38% детей первой и 46,97% пациентов 2 групп ( $P > 0,05$ ). По частоте регистрации отдельных клинических форм заболевания достоверных различий в группах не установлено. Так, в 1 группе смешанная форма БА отмечена у 55,77% детей, атопическая - у 44,23% пациентов. Во 2 группе такое распределение, соответственно, составило 45,46% и 54,54% наблюдений (во всех случаях  $P > 0,05$ ).

При поступлении пациентов в стационар во время обострения БА тяжесть бронхообструктивного синдрома оценивали по балльной шкале, предложенной Безруковым Л.А. (1981 г.) (12 показателей, которые отражают выраженность признаков дыхательной недостаточности и явлений бронхообструкции у ребенка), причем увеличение количества баллов отображало усиление проявлений бронхообструкции, а разница между исходной и актуальной суммой баллов - степень дезобструкции бронхов.

Полученные результаты исследования анализировались методом биостатистики и клинической эпидемиологии, а также с помощью пакета программ «STATISTICA 7.0» StatSoft Inc. и Excel XP для Windows на персональном компьютере с использованием параметрических и непараметрических методов вычисления.

Исследование проведено с соблюдением биоэтических требований в параллельных клинических группах сравнения, сформированных по принципу простой рандомизации, методом «случай-контроль», с соблюдением основных требований к нему.

### Результаты и обсуждение

Учитывая результаты комплексного клинико-параclinicalического обследования больных БА детей, в зависимости от наличия или отсутствия у них делеционного полиморфизма генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$ , нами была выдвинута рабочая гипотеза о том, что выявленные особенности будут отображаться на ответе обследованных пациентов на регламентированную дезобструктивную терапию приступа БА в условиях стационара.

Тяжесть бронхообструкции, оцененная с помощью балльной системы, при поступлении и в течение всего срока пребывания в стационаре, была несколько выше у пациентов без делеционного полиморфизма генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$ . Среднее количество баллов у детей в первый день стационара составило 12,5 баллов в 1 группе против 11,3 баллов во 2 группе ( $p > 0,05$ ), на третий день - 9,2 против 8,1, соответственно ( $p > 0,05$ ), на 5 день - 5,6 против 5,0 баллов ( $p > 0,05$ ), на 7 день - 3,4 против 2,8 баллов, соответственно ( $p > 0,05$ ). При этом абсолютный риск сохранения тяжести синдрома бронхиальной обструкции к четвертому дню госпитализации детей 1 группы по отношению к группе сравнения составил 24,3%, отношение шансов - 2,72 (95% ДИ: 0,64-11,54), относительный риск - 1,57 (95% ДИ: 0,42-5,94). Абсолютный риск сохранения более выраженной бронхообструкции у детей 1 группы на пятый день стационарного лечения выше 10 баллов составил 23,5% (соотношение шансов 2,6),

на седьмой день - 26,0% (соотношение шансов 2,9).

Исходя из отечественных и международных рекомендаций, среди симптоматических средств, используемых при обострении БА, выделяют следующие группы:  $\beta_2$ -агонисты короткого действия, холинолитики, глюкокортикостероиды (системные, топические) и препараты метилксантинового ряда. Нами установлено, что во время приступа БА монотерапию  $\beta_2$ -агонистами короткого действия использовали только у 15,69% и 13,64% детей в 1 и 2 группах сравнения, соответственно ( $P > 0,05$ ), глюкокортикостероиды (ГКС) применяли в 82,35% и 75,76% случаев ( $P > 0,05$ ), соответственно, а метилксантины для снятия приступа БА назначали 59,08% детей без полиморфизма изученных генов системы биотрансформации ксенобиотиков (1 группа) и 50,0% пациентов с делеционным полиморфизмом указанных генов ( $P > 0,05$ ).

Методы доставки ГКС препаратов у пациентов без полиморфизма изученных генов имели определенные особенности, которые, видимо, отражали несколько более тяжелый характер течения приступа БА. Так, ингаляционные ГКС назначали 37,26% детей 1 группы и 47,0% представителей 2 группы сравнения, пероральный путь использовался только у пациентов с полиморфизмом генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$  (в 1,52% случаев), а парентеральный путь введения ГКС применяли вдвое реже ( $7,58 \pm 3,28\%$ ) относительно детей 1 группы ( $15,69 \pm 5,09\%$ ,  $P > 0,05$ ), так же как и комбинацию ингаляционных, пероральных и парентеральных ГКС препаратов ( $3,92 \pm 2,72\%$  в 1 группе против  $1,52 \pm 1,51\%$  во 2 группе,  $P > 0,05$ ).

В определенной степени «агрессивную» комбинацию симптоматических лекарственных средств, которая включала  $\beta_2$ -адреномиметики быстрого действия, системные ГКС и метилксантины, назначали чаще пациентам без полиморфизма генов  $GSTT_1$  и  $GSTM_1$  (41% против 25% во 2 группе), что могло объясняться быстрой фармакокинетикой лекарственных средств при условии функционально активных генов, кодирующих отдельные ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков. Выявленные закономерности подтверждали статистически достоверная корреляционная связь (по Спирмену) тяжести бронхообструктивного синдрома (в баллах) с продолжительностью парентерального применения ГКС ( $r = 0,46$ ,  $P < 0,05$ ), а также длительностью назначения ГКС и инфузионной терапии ( $r = 0,33$ ,  $P < 0,05$ ) пациентам без полиморфизма генов глутатион-S-трансферазы  $T_1$  и  $M_1$ . Выявленные закономерности могли объясняться тем, что либо функцию дефектных генов при их делеционном полиморфизме могли брать на себя другие локусы, либо замедленная биотрансформация медикаментозных средств у детей 2 группы приводила к их длительной активности в организме.

У пациентов без полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков продолжительность парентерального введения ГКС препаратов составляла в среднем  $2,82 \pm 0,24$  дня, а средняя доза и ГКС -  $305,31 \pm 39,60$  мкг (95% ДИ: 224,54-386,08 мкг). В группе детей с полиморфизмом изученных генов продолжительность парентерального назначения ГКС достигала  $2,44 \pm 0,18$  суток ( $P > 0,05$ ), а средние суточные дозы ингаляционных препаратов данной группы достигали  $336,11 \pm 35,93$  мкг (95% ДИ: 263,69-408,53 мкг,  $P > 0,05$ ).

Инфузионную терапию глюкозо-солевыми растворами получали 37,26% и 31,82% школьников с признаками эксикоза ( $P > 0,05$ ), а средняя ее про-

должительность также достоверно не различалась и составила  $4,73 \pm 0,38$  дней и  $4,43 \pm 0,47$  суток ( $P > 0,05$ ), соответственно.

Лечение приступного периода бронхиальной астмы на Украине в целом соответствует национальным и зарубежным стандартам. При этом основными лекарственными средствами, которые применяются с целью симптоматической терапии, являются быстродействующие  $\beta_2$ -адреномиметики, системные и инга-

ляционные глюкокортикостероиды, метилксантины, что практически не зависело от особенностей функционирования генов глутатион-S-трансфераз  $T_1$  и  $M_1$ .

### Вывод

Отсутствие делеций в генах  $GSTM_1$  и  $GSTT_1$  ассоциировало с более выраженным бронхообструктивным синдромом в приступном периоде у детей и несколько более агрессивной тактикой дезобструктивной терапии.

### Литература

1. Беляева, Е.В. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз у детей разных этнических групп // Е.В. Беляева, О.А. Первушина // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2012. - №3 (85) – Часть 1. - С. 9-11.
2. Вавилин В.А. Ассоциация полиморфных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к бронхиальной астме у детей с наследственной отягощенностью и без таковой // В.А. Вавилин, С.И. Макарова, В.В. Ляхович, С.М. Гавалов // Генетика. – 2002. - Т. 38. - № 4. – С. 539–545.
3. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Н-Л, 2009. – 527 с
4. Иванов, В.П. Анализ ассоциации делеционных полиморфизмов генов глутатион-S-трансфераз  $GSTM_1$  и  $GSTT_1$  с предрасположенностью к бронхиальной астме и особенностями ее клинических проявлений в Курской популяции // В.П. Иванов, А.В. Полоников, М.А. Солодилова, М.А. Кожухов, В.И. Панфилов // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье» – 2005. - № 3. - С. 49-55.
5. Колоскова, О.К. Ефективність базисної терапії в дітей, хворих на бронхіальну астму з різним ацетиляторним фенотипом // О.К. Колоскова, Л.В. Микалюк, Т.М. Воротняк // Матеріали науково-практичної конференції «Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі та лікуванні внутрішніх хвороб», (Запоріжжя, 12-13 травня 2011). – Актуальні питання медичної науки та практики. – 2011. - Вип. 78, Т. 1, К. 2. - С. 48-55.
6. Королева, Ж.В. Роль полиморфных генетических маркеров ACE (I/D),  $GSTT_1$ ,  $GSTM_1$ , TNF  $\alpha$  и ожирения в патогенезе неуточненной инфекции подкожно-жировой клетчатки // Ж.В. Королева, С.В. Подольская // Дерматология та венерология. - № 1 (47). - 2010. - С. 47-53.
7. Полонников, А.В. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и их комплексное влияние на предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям. – Автореф. дисс. д. мед. н. – Москва, 2006. - 30 с.
8. Ляхович, В.В. Роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков в предрасположенности к бронхиальной астме и формировании особенностей ее клинического фенотипа / В.В. Ляхович [и др.] // Вестник РАМН. – 2000. - № 12. – С. 36-41.
9. Yechshzhanov, T. Association of Xenobiotic Detoxification Enzymes Gene Polymorphism in Predisposition of Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease // T. Yechshzhanov, A. Akparova, R. I. Bersimbay // Journal of Life Sciences. - 2011. - №5. - P. 777-783.
10. Global Initiative for Asthma (GINA) Report 2009. www.ginasthma.com.

### Literature

1. Belyayeva Ye.V. Polimorfizmgenov glutation-s-transferaz u detey raznykh etnicheskikh grupp // Ye.V. Belyayeva, O.A. Pervushina // Byulleten VSNTs SO RAMN. - 2012.- №3 (85) – Chast 1.- S. 9-11.
2. Vavilin V.A. Assotsiatsiya polimorfnykh genov fermentov biotransformatsii ksenobiotikov s predrasplozhennostyu k bronkhialnoy astme u detey s nasledstvennoy otyagoshchennostyu i bez takovoy // V.A. Vavilin, S.I. Makarova, V.V. Lyakhovich, S.M. Gavalov // Genetika. – 2002. - T. 38. - № 4. – S. 539–545.
3. Geneticheskiy pasport – osnova individualnoy i prediktivnoy meditsiny / pod red. V.S. Baranova. – SPb.: N-L, 2009. – 527 s
4. Ivanov V.P. Analiz assotsiatsii deletsionnykh polimorfizmov genov glutation-s-transferaz  $GSTM_1$  i  $GSTT_1$  s predrasplozhennostyu k bronkhialnoy astme i osobennostyami yeye klinicheskikh proyavleniy v Kurskoy populyatsii // V.P. Ivanov, A.V. Polonikov, M.A. Solodilova, M.A. Kozhukhov, V.I. Panfilov // Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i yego zdorovye» – 2005.- № 3.- S. 49-55.
5. Koloskova O.K. Yefektivnist bazisnoy terapii v ditey, khvorikh na bronkhialnu astmu z riznim atsetilyatornim fenotipom // O.K. Koloskova, L.V. Mikalyuk, T.M. Vorotnyak // Materiali naukovopraktichnoy konferentsii «Kreativni napryamki v diagnostitsi, patogenezi ta likuvanni vnutrishnikh khvorob», (Zaporizhzhya, 12-13 travnya 2011). – «Aktualni pitannya medichnoy nauki ta praktiki». – 2011. - Vip. 78, T. 1, K. 2. - S. 48-55.
6. Koroleva Zh.V. Rol polimorfnykh geneticheskikh markerov ACE (I/D),  $GSTT_1$ ,  $GSTM_1$ , TNF  $\alpha$  i ozhireniya v patogeneze neutochnennoy infektsii podkozhno-zhirovoy kletchatki // Zh.V. Koroleva, S.V. Podolskaya // Dermatologiya ta venerologiya. - №1 (47). - 2010. – P. 47-53.
7. Polonnikov A.V. Polimorfizm genov fermentov biotransformatsii ksenobiotikov i ikh kompleksnoye vliyaniye na predrasplozhennost k multifaktorialnym zabolevaniyam. – Avtoref. diss. d. med. n. – Moskva, 2006. - 30 s.
8. Lyakhovich V.V., Vavilin V.A., Makarova S.I. i dr. Rol fermentov biotransformatsii ksenobiotikov v predrasplozhennosti k bronkhialnoy astme i formirovaniy osobennostey yeye klinicheskogo fenotipa // Vestnik RAMN. – 2000. - № 12. – P. 36-41.
9. Yechshzhanov T. Association of Xenobiotic Detoxification Enzymes Gene Polymorphism in Predisposition of Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease // T. Yechshzhanov, A. Akparova, R. I. Bersimbay // Journal of Life Sciences. – 2011. - №5. - P. 777-783.
10. Global Initiative for Asthma (GINA) Report 2009. www.ginasthma.com.

PECULIARITIES OF DESOBSTRUCTIVE THERAPY IN THE ATTACK PERIOD OF BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN WITH DELETION POLYMORPHISM OF GENES GSTT<sub>1</sub> AND GSTM<sub>1</sub>

*Mykaliuk L. V., Galushchinskaya A. V.*

Bukovinian State Meducal University, Chernivtsi, Ukraine

---

*Judging from the modern scientific data, the role of detoxification system in the course of bronchial asthma in children and in the peculiarities of the attack treatment are understudied. 118 schoolchildren have undergone assessment, carried out to increase the effectiveness of desobstructive therapy, depending on genotypic characteristics of the 2nd phase of the xenobiotics detoxification system. The study has shown that the absence of deletions in genes GSTT1 and GSTM1 was associated with more severe course of the attack period and somewhat more aggressive tactics of desobstructive therapy.*

**Key words:** *children, bronchial asthma, deletion polymorphism of genes GSTT<sub>1</sub> and GSTM<sub>1</sub>.*

---

Адрес для корреспонденции: e-mail: kvitalla1@gmail.com

Поступила 18.01.2014