

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 57.042:577.152.199.2 +.2 :616

©Коллектив авторов

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ M1 И T1 У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ.

В.А. ВАВИЛИН¹, О.Б. ЧАСОВНИКОВА¹, В.В. ЛЯХОВИЧ¹,
С.М. ГАВАЛОВ², О.А. РЯБОВА²

¹Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, 630117,
Новосибирск, ул. акад. Тимакова, 2; факс (3832) 32-31-47,
эл. почта: drugsmet@cyber.ma.nsc.ru

²Новосибирская государственная медицинская академия, 630091,
Красный проспект, 52

Проведено сравнительное исследование распространенности гомозиготной делеции генов глутатион-S-трансфераз μ и θ (нуль-генотипы, или GSTM1^{-/-} и GSTT1^{-/-}) у больных бронхиальной астмой (БА) ($n = 100$) и здоровых детей ($n = 104$). Частоты встречаемости GSTM1^{-/-} и GSTT1^{-/-} в группе больных (52 и 26%) превышали таковые в группе здоровых (42 и 11%). Отношение шансов (odds ratio, OR) составило для GSTM1^{-/-} 1,48; CI: 0,82-2,67; $p = 0,16$; а для GSTT1^{-/-} - 2,69; CI: 1,2-6,11; $p = 0,0079$. Для комбинации двух нуль-генотипов OR = 5,12; CI: 0,55-119,5; $p = 0,1$. На основании этих результатов сделан вывод о том, что данные нуль-генотипы ассоциированы с предрасположенностью к А. Пассивное курение увеличивает риск развития БА, ассоциированный с GSTM1^{-/-}, но не с GSTT1^{-/-}. Проведена оценка взаимосвязи этих генотипов с поливалентной аллергией, ранним развитием, и тяжелым течением астмы. В группе некурящих больных выявлена ассоциация индивидуальных плюс-генотипов с устойчивостью к поливалентной аллергии и тяжелому течению, а нуль-генотипов - с ранним развитием, но статистическая достоверность в выборке не достигается. Комбинация нуль-генотипов ассоциирована у некурящих больных с ранним развитием (OR = 6,5; CI: 0,78-64,95; $p < 0,05$), а комбинация плюс-генотипов - с поливалентной аллергией (OR = 7,35; CI: 1,07-63,44; ($p < 0,05$)). У больных - пассивных курильщиков (ПК) GSTM1^{-/-} ассоциирован с ранним развитием заболевания (OR = 9,0; CI: 1,02-203,3; $p < 0,05$), а GSTT1^{-/-} - с тяжелым течением заболевания (OR = 4,64; CI: 1,16 - 19,34; $p < 0,05$), комбинация плюс-генотипов выполняет защитную роль в отношении всех неблагоприятных проявлений заболевания. Пассивное курение является фактором риска неблагоприятного течения болезни для больных с GSTM1^{-/-}. Наиболее чувствительной к неблагоприятным эффектам пассивного курения оказалась комбинация GSTM1^{-/-}/GSTT1^{-/-}.

Ключевые слова: глутатион-S-трансфераза M1 и T1, генетический полиморфизм, бронхиальная астма, предрасположенность, особенности течения заболевания

ВВЕДЕНИЕ. Бронхиальная астма является заболеванием, в этиологии и патогенезе которого имеют значение многие гены и факторы окружающей среды [1]. Широкий спектр химических агентов провоцирует развитие заболевания, оказывая прямые токсические и раздражающие эффекты на бронхи. В последние годы идентифицированы также соединения, которые приобретают сенсibiliзирующие свойства уже вследствие метаболизма *in vivo* [2,3]. Однако, роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК) в этиологии и патогенезе астмы остается малоизученной.

Присущие ФБК индуцибельность и генетический полиморфизм лежат в основе широкой межиндивидуальной вариабельности в метаболизме чужеродных соединений, создают возможность дисбаланса процессов детоксификации последних. Эти индивидуальные особенности могут проявляться как факторы предрасположенности к заболеванию или как факторы, модифицирующие его клинический фенотип. Суперсемейство глутатион-S-трансфераз (GST) является перспективным объектом для такого исследования. В разных отделах дыхательного тракта выявлена экспрессия GST классов α , μ , π [4,5], которые участвуют в метаболизме ксенобиотиков-аллергенов [3] и интермедиатов воспалительных процессов – простагландинов и продуктов перекисного окисления липидов [6]. Все цитозольные формы GST являются полиморфными, а для GST μ и GST θ описан нуль-полиморфизм (делеция соответствующих генов GSTM1 и GSTT1) [7,8]. Распространенность носителей гомозиготной делеции GSTM1 среди взрослых европеоидов (GSTM1^{-/-}-генотип) варьирует от 40 до 60% [9,10], а GSTT1^{-/-} от 10 до 20% [9,11].

Целью нашей работы было выявление ассоциированной с генетическим полиморфизмом GSTM1 и GSTT1 предрасположенности к бронхиальной астме у детей и клинических особенностей заболевания.

МЕТОДИКА. Обследовано 100 детей, больных бронхиальной астмой, из них 68 мальчиков (68 %) и 32 девочки (32%) от 6,75 до 15 лет, средний возраст 10,8 лет. Больные (и при необходимости их родители) опрашивались по специальному опроснику, который позволял учесть генетическую предрасположенность к астме и другим атопическим заболеваниям, неблагоприятные воздействия окружающей среды в связи с местом жительства и характером работы родителей, фактор курения родителей и ребенка. Больные, родственники или соседи которых курили в квартире, составили группу пассивных курильщиков (ПК) (60 детей). Группу детей, не подвергающихся такому воздействию табачного дыма, мы обозначили как «некурящие» (40 детей). Клиническое обследование включало общеклинические методы, оценку функции внешнего дыхания с помощью компьютерной пневмотахометрии и аллергочувствительности методом прик-тестирования со стандартным набором аллергенов. Наличие аллергии к 3 и более типам аллергенов расценивали как поливалентную аллергию. За раннее начало принимали развитие заболевания не позднее 3 лет. Степень тяжести заболевания оценивалась в соответствии с [12]. Контрольная группа включала 104 ребенка (58 мальчиков (55,8%), 46 девочек (44,2%) от 4 до 14 лет, средний возраст 8,2 лет). Основным критерием отбора в контрольную группу было отсутствие каких бы то ни было проявлений сенсibilизации. В этой группе насчитывалось 74 (71,2%) пассивных курильщика и 30 (28,8%) «некурящих» детей. И больные, и здоровые дети были европеоидами,

что исключало влияние этнического фактора на распределение полиморфных признаков в группах.

Подготовка образцов ДНК и условия амплификации для оценки полиморфизма гена GSTM1 подробно описаны нами ранее [13]. Условия амплификации ДНК для оценки полиморфизма гена GSTT1 были идентичны таковым для GSTM1. Последовательности праймеров для оценки полиморфизма генов GSTM1 и GSTT1 взяты из работ [7,8]. Продукты амплификации подвергали электрофорезу в 2% агарозном геле. Используемые методы позволяли различить гомозиготную делецию (одна полоса на электрофореграмме) от гетерозиготы и нормальной гомозиготы (две полосы на электрофореграмме)

Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к астме и ее клиническими особенностями судили по величине отношения шансов (odds ratio, OR) – показателю, показывающему, во сколько раз вероятность оказаться в группе “случай” (больные) отличается от вероятности оказаться в группе “контроль” (здоровые) для носителя изучаемого генотипа [14]:

$$OR=(A/B)/(C/D)$$

В нашем случае А и В – процент или абсолютное число носителей нуль-генотипа и плюс-генотипа в группе “случай” соответственно, а С и D – те же признаки в группе “контроль”. Величины OR, рассчитанные путем сопоставления частот только некурящих больных и здоровых детей, или, наоборот, рассчитанные только для больных и здоровых ПК, показывают влияние генотипа (OR_g) на риск возникновения БА, но в разных условиях окружающей среды. OR, рассчитанное сопоставлением больных ПК и некурящих здоровых детей, учитывает взаимодействие генетического признака и внешнего фактора ($OR_{(g+f)}$). Если влияние этих факторов на риск возникновения БА однонаправленно, то $OR_{(g+f)}$ будет выше, чем OR_g для некурящих. Если же влияние этих факторов разнонаправленно, то величина $OR_{(g+f)}$ будет ниже. Для оценки ассоциации генетических признаков с клиническими особенностями астмы (поливалентная аллергия, раннее развитие, тяжелое течение) также использовали отношение шансов. В этих оценках группой «случай» являлись больные, имеющие клиническую особенность, а группой «контроль» – больные без таковой. Величины OR, их доверительные интервалы и значимость различий по критерию χ^2 рассчитывали с использованием программы Epi Info 6.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Данные по генотипированию представлены в таблице 1. Наши результаты являются первым сообщением о частоте встречаемости нуль-генотипов GSTM1 и GSTT1 у европеоидов России, поэтому специально отметим, что в контрольной выборке они близки к наблюдаемым в популяциях европеоидов Западной Европы и Северной Америки. [9,10,11], но тяготеют к нижним границам сообщаемых величин. Это может быть связано с тем, что критерием отбора в группу «контроль» было отсутствие любых проявлений аллергии. Так как распространенность аллергических заболеваний в популяции достигает десятков процентов [1], введение такого критерия должно было снизить частоту встречаемости изучаемых признаков в контроле при условии, что они связаны с предрасположенностью к этим заболеваниям.

Действительно, в группе больных наблюдается более высокая встречаемость нуль-генотипов GSTM1 и GSTT1, чем в контроле. Значения OR свидетельствуют об ассоциации нуль-генотипов с предрасположенностью к бронхиальной астме, причем генотип GSTT1”-” обладает большей рисковой

значимостью, чем GSTM1"- (OR_g = 2,69; CI: 1,2 – 6,11 и OR_g = 1,48; CI: 0,82 – 2,67, соответственно).

Таблица 1. Частоты встречаемости генотипов GSTM1"- и GSTT1"- у больных и здоровых детей и величины их рисковой значимости.

Группы	Астма		Контроль		Величины OR _g	
	GSTM1"- (%)	GSTT1"- (%)	GSTM1"- (%)	GSTT1"- (%)	GSTM1"- (%)	GSTT1"- (%)
Все	52	26	42	11,5	1,48	2,69***
Некурящие	45	27,5	36,7	3,3	1,41	11,0***
ПК	57	25	44,6	14,9	1,62	1,91
OR _(g+f)					2,26*	9,67**

Примечание: * - p < 0,1; ** - p < 0,05; *** - p < 0,01

Клинико-эпидемиологические наблюдения показывают, что пассивное курение является фактором риска бронхиальной астмы у детей [15, 16]. Табачный дым содержит около 4000 соединений [17] и является модельной средой, воздействие которой позволяет идентифицировать многие гены, участвующие во взаимодействии организма с глобальной окружающей средой. Среди компонентов табачного дыма есть субстраты GSTμ (эпоксиды полиароматических углеводородов [18]) и GSTθ (дигалоалкены [8]). Поэтому мы проанализировали риск развития заболевания, ассоциированный с генотипами, отдельно для некурящих и ПК. Для генотипа GSTM1"- величины OR_g не отличались, а для GSTT1"- показатели риска были выше у некурящих детей, чем у ПК (OR_g = 11,0; CI: 1,31-242,69 и OR_g = 1,91; CI 0,74-4,96, соответственно). Более низкая величина OR_g для GSTT1"- у ПК, чем у некурящих может объясняться большей чувствительностью носителей нуль-генотипа к патогенным эффектам загрязнителей окружающей среды в области низких концентраций, что отмечается в работе [19], а также балансом детоксификации/токсификации компонентов табачного дыма в разных метаболических путях, концентрационными различиями в насыщении активностей этих путей [20]. Кроме того, курение, как комплексный фактор риска, вовлекает много других существенных механизмов развития заболевания. Увеличение вследствие этого распространенности заболевания чисто статистически снижает показатели риска, наблюдаемые для индивидуальных генетических признаков, т.к. их распределение среди больных стремится к таковому во всей популяции. Оценки рисковой значимости генотипов в сочетании с пассивным курением (OR_(g+f)) свидетельствуют об ее увеличении в сравнении с некурящими для генотипа GSTM1"- (OR_(g+f) = 2,26; CI: 0,84-6,15; p = 0,074) и снижении для GSTT1"- (OR_(g+f) = 9,67 (CI: 1,22-206,58; p = 0,011). Таким образом, приведенные результаты показывают, что нуль-генотипы GSTM1 и GSTT1 являются факторами риска бронхиальной астмы у детей. Пассивное курение ослабляет рисковую значимость GSTT1"- и усиливает таковую для GSTM1"- . Из этого следует, что данные генотипы участвуют в формировании предрасположенности к бронхиальной астме под воздействием окружающей среды.

В связи с выявленными особенностями индивидуальных генотипов в ассоциации с предрасположенностью к астме, большой интерес представляла

оценка их взаимодействия. Данные таблицы 2 показывают, что у некурящих комбинация двух нуль-генотипов обуславливает высокий и статистически

Таблица 2. Величины относительного риска развития бронхиальной астмы у детей с различными комбинациями генотипов глутатион-S-трансфераз M1 и T1.

Группы	Величины OR _g			
	M1 ⁻ /T1 ⁻	M1 ⁻ /T1 ⁺	M1 ⁺ /T1 ⁻	M1 ⁺ /T1 ⁺
Все	2,45*	1,16	2,45*	0,47***
Некурящие	5,12*	0,86	нет в контроле	0,43*
ПК	1,59	1,45	1,91	0,43**
OR _(g+f)	2,64	1,87	-	0,21#

Примечание: * - $p < 0,1$, ** - $p < 0,05$, *** - $p < 0,01$, # - $p < 0,001$

достоверный риск развития астмы. Комбинация GSTM1⁻/GSTT1⁺ не ассоциирована с риском заболевания, а GSTM1⁺/GSTT1⁻ встречается только у больных и не выявлена в контрольной группе. Эти данные свидетельствуют о доминирующей роли GSTT1⁻ в формировании предрасположенности к заболеванию у некурящих. С таким выводом согласуется и тот факт, что при сравнении выборок в целом комбинация GSTM1⁺/GSTT1⁻ имеет равный показатель с комбинацией нуль-генотипов. Сочетание двух плюс-генотипов обеспечивает статистически достоверную резистентность к развитию астмы. Защитный эффект комбинации GSTM1⁺/GSTT1⁺ наблюдается и у ПК, и в выборках в целом. Все другие комбинации у ПК выступают в качестве факторов риска, но для достижения статистической достоверности требуется увеличение выборки. При воздействии табачного дыма рисковая значимость комбинации двух нуль-генотипов снижается, а комбинации GSTM1⁻/GSTT1⁺ возрастает. Защитный эффект сочетания двух плюс-генотипов проявляется с максимальной силой (OR_(g+f) = 0,21; CI: 0,07 - 0,59). Таким образом, анализ комбинаций подтвердил рисковую значимость нуль-генотипов GSTM1 и GSTT1 и выявил доминирующую роль GSTT1⁻ в формировании предрасположенности. Он показал, что максимальный риск заболевания ассоциирован с отсутствием обоих генов в условиях без воздействия табачного дыма. Напротив, сочетание функциональных генов обеспечивает устойчивость к развитию заболевания.

Далее мы проанализировали взаимосвязь полиморфизма изучаемых генов с такими клиническими особенностями заболевания, как поливалентная аллергия, раннее развитие и тяжелое течение заболевания. Значение таких оценок состоит в том, что они указывают на возможное участие исследуемых генов в патогенетических механизмах, лежащих в основе клинических проявлений заболевания. В выборе этих клинических проявлений мы основывались на представлениях о важности аллергии и хронического воспаления в бронхах в патогенезе астмы. Предполагалось, что дисбаланс детоксификации/токсификации ксенобиотиков, обусловленный полиморфизмом GST, может клинически проявиться поливалентной аллергией и ранним развитием заболевания, а тяжесть заболевания, как более комплексный показатель, позволит учесть эффекты генов через любые существенные механизмы патогенеза. Можно видеть (табл. 3), что у некурящих генотип GSTM1⁻ не ассоциирован ни с одним из неблагоприятных клинических проявлений. Напротив, в отношении поливалентной аллергии и

тяжести течения этот генотип является фактором устойчивости ($OR_g = 0,27$; CI 0,03- 1,80; $OR_g = 0,46$; CI: 0,1-2,09). Генотип GSTT1"-“ не выявлен среди

Таблица 3. Ассоциация нуль-генотипов GSTM1 и GSTT1 с клиническими особенностями бронхиальной астмы.

Группы	OR_g GSTM1"-“			OR_g GSTT1"-“		
	ПВА	РР	Тяж. Течение	ПВА	РР	Тяж. течение
Все больные	0,9	2,37*	0,81	0,38	1,45	1,34
Некурящие	0,27	1,33	0,46	Нет случая ПВА	2,62	0,94
ПК	1,98	9,00**	1,23	0,88	0,71	4,64**
$OR_{(g+f)}$	7,88**	9,00**	3,0		0,35	2,25

Примечание: * - $p < 0,1$; ** - $p < 0,05$; ПВА – поливалентная аллергия; РР – раннее развитие; ПК – пассивные курильщики.

больных с поливалентной аллергией, что характеризует его как фактор устойчивости, но ассоциирован с риском раннего развития астмы ($OR_g = 2,62$; CI: 0,49-14,48). У ПК возрастает ассоциированный с генотипом GSTM1"-“ риск всех неблагоприятных особенностей заболевания, особенно раннего развития астмы ($OR_g = 9,0$; CI: 1,02 – 203,94). Генотип GSTT1"-“ утрачивает рисковую значимость в отношении раннего развития заболевания, но становится фактором риска тяжелого течения заболевания ($OR_g = 4,64$; CI: 1,16 – 19,34). Величины $OR_{(g+f)}$ показывают, что пассивное курение увеличивает ассоциированный с генотипом GSTM1"-“ риск всех неблагоприятных особенностей заболевания. Величины $OR_{(g+f)}$ для GSTT1"-“ меняются по разному: снижается вероятность раннего развития, но увеличивается вероятность тяжелого течения заболевания. В целом, анализ показал, что взаимосвязь генотипов с клиническими проявлениями является неоднозначной, не распространяется на все клинические проявления и в значительной мере модифицируется пассивным курением вплоть до изменения функциональной значимости генотипа, когда факторы риска становятся факторами устойчивости и наоборот. Последнее свидетельствует о важности анализа ассоциации признаков раздельно для некурящих и ПК, т.к. наблюдаемые в объединенной выборке усредненные величины будут маскировать взаимосвязь и ее характер.

Как и для предрасположенности, мы проанализировали влияние комбинаций генетических признаков на клинические особенности астмы. У некурящих больных с поливалентной аллергией ассоциирована комбинация плюс-генотипов, доминирующее влияние имеет GSTT1 (табл.4). С ранним развитием астмы ассоциирована комбинация нуль-генотипов. Взаимодействие нуль-генотипов дает синергический эффект, поскольку величина OR_g комбинации GSTM1"-“ и GSTT1"-“ превышает сумму OR_g индивидуальных нуль-генотипов ($6,5 > 1,33 + 2,62$). Каждый из плюс-генотипов в равной мере снижает показатели риска, а комбинация двух плюс-генотипов уже не наблюдается у больных с ранним развитием астмы. С тяжелым течением заболевания ассоциирована комбинация плюс-генотипов, но без статистической достоверности. У ПК с поливалентной аллергией взаимосвязана комбинация GSTM1"-“/GSTT1"-“, а комбинация плюс-генотипов выполняет роль фактора устойчивости. С ранним

развитием астмы также ассоциирована комбинация GSTM1⁻"/GSTT1⁺". Риск тяжелого течения заболевания у ПК ассоциирован с комбинацией GSTM1⁺"/GSTT1⁻". Воздействие пассивного курения значительно увеличивает риск всех неблагоприятных особенностей заболевания, связанный с комбинацией GSTM1⁻"/GSTT1⁺", особенно риск раннего развития астмы ($OR_{(f+g)} = 20$; CI: 1,67 – 398,28). Риск поливалентной аллергии и тяжелого течения заболевания, ассоциированный с комбинацией плюс-генотипов, под влиянием этого фактора достоверно снижается. Комбинация плюс-генотипов в сочетании с воздействием пассивного курения является фактором устойчивости к поливалентной аллергии, раннему развитию и тяжелому течению астмы. Таким образом, анализ комбинаций показал со статистической достоверностью ряд эффектов генотипов и влияние пассивного курения.

Таблица 4. Ассоциация комбинаций генотипов глутатион-S-трансфераз M1 и T1 с клиническими особенностями бронхиальной астмы.

группы	Величины OR_g для комбинаций генотипов											
	"-"/-	"-"/+"	"/-"	"/+"	"-"/-	"-"/+"	"/-"	"/+"	"-"/-	"-"/+"	"/-"	"/+"
	Поливалентная аллергия				Раннее развитие				Тяжелое течение			
Все	0,31	1,26	0,5	1,56	3,53**	1,26	0,5	0,53	1,07	0,78	3,4**	0,59
Неку- рящие	Нет слу- чая ПВА	0,60	Нет слу- чая ПВА	7,35**	6,50**	0,36	0,55	0,95	0,81	0,44	1,13	2,03
ПК	0,9	1,98	0,89	0,43	1,28	5,52**	0,51	Нет случая РР	1,37	1,11	6,6** *	0,09***
$OR_{(g+d)}$	-	5,6*	-	0,05**	0,22	20,0***	1,22	-	0,72	4,00*	3,5	0,05***

Примечание: * - $p < 0,1$; ** $p < 0,05$; *** - $p < 0,01$; ПВА- поливалентная аллергия, РР – раннее развитие; ПК – пассивные курильщики.

Важной особенностью полученных результатов является то, что они демонстрируют ассоциацию мутантных генотипов с предрасположенностью к астме, и у тех же больных – ассоциацию нормальных генотипов с некоторыми неблагоприятными особенностями заболевания. Это указывает на то, что в основе обнаруженных взаимосвязей лежат разные механизмы. Предполагается, что ФБК вовлекают иммунное звено в патогенез заболеваний через образование реактивных метаболитов ксенобиотиков, их ковалентное связывание с макромолекулами клетки с образованием "конъюгированных антигенов" [2,3,21]. В этом случае риск развития заболевания должен быть взаимосвязан с высокой активностью фермента. Именно такой механизм наблюдается в нашем исследовании у некурящих больных (поливалентная аллергия ассоциирована с плюс-генотипами). Глутатион-зависимая токсификация показана для дигалоалкенов, гидрохинонов и изотиоцианатов, предшественников органических тиоцианатов и нитрозогуанидинов [22]. В противном случае, когда исходный ксенобиотик обладает высокой реакционной способностью, дефект гена и/или низкая активность белка являются факторами риска. Конъюгацией с глутатионом достигается детоксификация компонентов табачного дыма - эпоксидов полиароматических углеводов, которые являются субстратами преимущественно GST μ [18] и монозамещенных галоалкенов, являющихся

субстратами GST θ [8], и мы наблюдаем возрастание рисковости нуль-генотипов. Идентификация конъюгированных антигенов и антител к ним является трудной задачей даже в тех случаях, когда известно действующее низкомолекулярное соединение. Поэтому на начальных этапах исследования важны оценки генетических и метаболических факторов предрасположенности к аллергическим реакциям. Целесообразность такого подхода показана в работах по изучению непереносимости противосудорожных препаратов [23].

В отличие от аллергии, в раннем развитии астмы важная роль принадлежит нуль-генотипам. Мы предполагаем, что в этой ассоциации проявляется многообразие биологических функций GST: участие в метаболизме эндогенных интермедиатов воспаления (простагландина H₂, PgD₂, PgE₂, PgF_{2 α} , лейкотриена C₄), нейромедиаторов (дофамина) [6], изомеразная активность в стероидогенезе [24], транспортная функция [25]. Возможно, существуют механизмы взаимосвязи с регуляторным цитокиновым звеном. Кроме того, накапливаются данные о важной роли ФБК в период эмбрионального развития, указывающие на их участие в сигнальной трансдукции. Так, полиморфизм цитохрома P450 1B1 ассоциирован с семейно-наследуемой глаукомой [26].

Тяжесть заболевания является более комплексным признаком, чем два рассмотренные выше, и характер ассоциации генотипов GST с этим клиническим признаком определяется не только процессами аллергизации, но и участием этих ферментов в метаболизме интермедиатов воспалительных реакций. Пассивное курение увеличивает рисковую значимость обоих нуль-генотипов, что может объясняться несостоятельностью GST в детоксификации компонентов табачного дыма, а также многообразием эффектов, вызываемых курением. Они включают индукцию экспрессии генов, секрецию гормонов, изменение активностей ферментов, развитие окислительного стресса [27]. Фактор курения, вследствие эффектов озона, инициирует накопление радикальных форм кислорода. Последние активируют ядерный фактор транскрипции "карра В", координирующий синтез провоспалительных интерлейкинов [28, 29]. В связи с этим существенно, что нуль-генотип GSTT1 (формы GST, участвующей в метаболизме перекисей липидов) является фактором риска тяжелого течения астмы именно у пассивных курильщиков.

В целом, полученные результаты позволяют констатировать, что нуль-генотипы GSTM1"- и GSTT1"- являются факторами риска бронхиальной астмы у детей. Изученные признаки взаимосвязаны также с клиническими проявлениями заболевания: с поливалентной аллергией ассоциированы плюс-генотипы, с ранним развитием - нуль-генотипы; плюс-генотипы являются фактором устойчивости к тяжелому течению у пассивных курильщиков. Пассивное курение ослабляет или усугубляет эффекты генотипов, меняет их рисковую значимость на противоположную.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственной научно-технической программы "Здоровье населения России" по направлению 06.04, (грант 06.04.01.04).

ЛИТЕРАТУРА

1. Sandford A., Weir T., Pare P. (1995) Am. J. Respir. Crit. Care Med, **153**, 1749-1765.

2. *Mulder G.J.* (1995) In: *Toxicology of industrial compounds*. Taylor & Francis Ltd. UK. pp. 37- 44.
3. *van Bladeren P.J., van Ommen B.* In: *Toxicology of industrial compounds*. Taylor & Francis Ltd. pp. 61-72.
4. *Gervasi P.G., Longo V., Naldi F., Panattoni G., Ursino F.* (1991) *Biochem. Pharmacol.*, **41**, 177-184.
5. *Mace K., Bowman E.D., Vautravers P. Shields P.G., Harris C.C., Pfeifer A.M.* (1998) *Europ. J. Cancer*, **34**, 914-920.
6. *Wang W., Ballatori N.* (1998) *Pharmacol. Rev.*, **50**, 335-355.
7. *Seidegard J., Worachek W.R., Pero R.W., Pearson W.R.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 7293-7297.
8. *Pemble S., Schroeder K.R., Spencer S.R. Meyer D.J., Hallier E., Bolt H.M., Ketterer B., Taylor J.B.* (1994) *Biochem. J.*, **300**, 271-276.
9. *Deakin M., Elder J., Hendrickse C., Peckham D., Baldwin D., Pantin C., Wild N., Leopard P., Bell D.A., Jones P., Duncan H., Brannigan K., Alldersea J., Fryer A.A., Strange R.C.* (1996) *Carcinogenesis*, **17**, 881-884.
10. *Zhong S., Wyllie A.H., Barnes D., Wolf C.R., Spurr N.K.* (1993) *Carcinogenesis*, **14**, 1821-1824.
11. *Warholm M., Rane A., Alexandrie A.K., Monaghan G, Rannug A.* (1995) *Pharmacogenetics*, **5**, 252-254.
12. Национальная программа "Бронхиальная астма у детей, стратегия лечения и профилактика", Москва, 1997.
13. *Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гуткина Н.И., Лактионова И.П., Макарова С.И., Митрофанов Д.В., Осташевский В.А., Часовникова О.Б.* (1997) *Вопр. мед. химии*, **43**, 330-338.
14. *Pearce N.* (1993) *Int. J. Epidemiol.*, **22**, 1189-1192.
15. *Гавалов С.М., Демченко А.А., Казначеева Л.Ф. Горшкова Н.Ф., Патрикеева Н.М.* (1984) *Педиатрия*, №1, 32-34.
16. *Infante-Rivard C., Gauthrin D., Malo J.L., Suissa S.* (1999) *Am. J. Epidemiol.*, **150**, 529-531.
17. *Wang S.S., Samet J.S.* (1997) *Salud Publica Mex.*, **39**, 331-345.
18. *Ketterer B., Taylor J., Meyer D., Pemble S., Coles B., ChuLin X., Spencer S.* Structure and functions of glutathione S-transferases. CRC Press Boca Raton. Florida, pp.15-27.
19. *Drakoulis N., Cascorbi I., Brockmoller J., Gross C.R., Roots I.* (1994) *Clin. Invest.*, **72**, 240-248.
20. *Nyberg F., Hou S.M., Hemminki K., Lambert B., Pershagen G.* (1998) *Cancer Epidemiol. Biomark. Prevent.*, **7**, 875-883.
21. *Hess D.A., Rieder M.J.* (1997) *Ann. Pharmacother.*, **31**, 37-44.
22. *Monks T.J., Anders M.W., Dekant W., Stevens J.L., Lau S.S., van Bladeren P.J.* (1990) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **106**, 1-19.
23. *Leeder J.S. Lu X., Timsit Y. and Gaedigk A.* (1998). *Pharmacogenetics*, **8**, 211-225.
24. *Tiltman A.J., Haffajee Z.* (1999). *Gynecol Obstet Invest*, **47**, 247-250
25. *Oakley A.J., Lo Bello M., Nuccetelli M., Mazzetti A.P., Parker M.W.* (1999) *J. Mol. Biol.*, **291**, 913-926.
26. *Stoilov I., Akarsu A.N., Sarfarazi M.* (1997) *Hum. Mol. Genet.*, **6**, 641-647.
27. *Yildiz D., Ercal N., Armstrong D.W.* (1998) *Toxicology.*, **130**, 155-65.
28. *Shreck R., Baeuerle A.P.* (1994) *Meth. Enzymol.*, **234**, 151-163.

29. Haddad E.B., Salmon M., Koto H., Barnes P.J., Adcock I., Chung K.F. (1996) FEBS Lett., **379**, 265-268.

Поступила 28.04.2000.

GENETIC POLYMORPHISMS OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE M1 AND T1 IN ASTHMATIC CHILDRENS.

V.A VAVILIN¹, O.B.CHASOVNIKOVA¹, V.V.LYAKHOVICH¹, S.M.GAVALOV²,
O.A.RYABOVA²

¹Institute of Molecular Biology and Biophysics Siberian Branch of RAMS, acad. Timakov str., 2, Novosibirsk, Russia, 630117. FAX (3832) 32-31-47, E-mail: drugsmet@cyber.ma.nsc.ru

²Novosibirsk State Medical Academy, Krasny prosp., 52, Novosibirsk, Russia, 630091.

Asthmatic (n =100) and health (n =104) childrens were compared for rates of homozygous deletions of the glutathione S-transferase class μ and θ genes (null genotypes, GSTM1^{-/-} and GSTT1^{-/-}, respectively). The frequency of GSTM1^{-/-} and GSTT1^{-/-} genotypes in patients with bronchial asthma (BA) (52 и 26%) were increased compared to healthy children (42 and 11%) (odds ratio (OR) for GSTM1^{-/-} = 1.48; CI: 0.82-2.67; p = 0.16; OR for GSTT1^{-/-} = 2.69; CI: 1.2-6.11; p = 0.0079). OR for GSTM1^{-/-} and GSTT1^{-/-}-combination was 5,12; CI: 0.55-119.5; p = 0.107. We conclude that null-genotypes are associated with susceptibility to BA in children. Passive smoking (PS) increased risk of BA for children with GSTM1^{-/-} genotype, but not with GSTT1^{-/-} genotype. The association of these genotypes was estimated with such clinical peculiarities of BA as polyvalent allergy, early development and heavy course. In the group of nonsmoking (NS) patients was found the statistically in significant association of individual null genotypes with any clinical peculiarities. Combination of null-genotypes in NS patients associated with early development of BA (OR = 6.5; CI: 0.78-64.95; p < 0.05), and combination of plus genotypes – with polyvalent allergy (OR = 7.35; CI: 1.07-63.44; p < 0.05). In the group of PS patients GSTM1^{-/-} genotype was associated with early development of BA (OR = 9.0; CI:1.02-203.3; p < 0.05) and GSTT1^{-/-} genotype –with heavy course of disease (OR = 4.64; CI: 1.16 – 19.34; p < 0.05). Passive smoking was the risk factor for the unfavourable course of BA for the patients carrying GSTM1^{-/-} genotype. Combination of plus genotypes protected PS patients from all unfavourable peculiarities of disease.

Key words: glutathione S-transferase M1 and T1, genetic polymorphism, bronchial asthma, susceptibility, peculiarities of clinical phenotypes.