

УДК 616.248-053.2-056.76

## СЕМЕЙНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ADRB2 ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

*М. С. Пономарёва<sup>1</sup>, Е. Г. Фурман<sup>1\*</sup>, Е. А. Хузина<sup>2</sup>, А. М. Ярулина<sup>3</sup>, Е. А. Жданович<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Пермский государственный медицинский университет

им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь,

<sup>2</sup>Городская детская клиническая поликлиника № 6, г. Пермь,

<sup>3</sup>Городская детская клиническая поликлиника № 2, г. Пермь,

<sup>4</sup>Клиники «Альфа-центр здоровья», г. Пермь, Россия

## FAMILY POLYMORPHISM OF ADRB2 GENE IN CHILDHOOD BRONCHIAL ASTHMA

*M. S. Ponomareva<sup>1</sup>, E. G. Furman<sup>1\*</sup>, E. A. Khuzina<sup>2</sup>, A. M. Yarulina<sup>3</sup>, E. A. Zhdanovich<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Perm State Medical University named after E. A. Wagner, Perm,

<sup>2</sup>City Children's Clinical Polyclinic № 6, Perm,

<sup>3</sup>City Children's Clinical Polyclinic № 2, Perm,

<sup>4</sup>Clinic "Alpha-Center of Health", Perm, Russian Federation

**Цель.** Изучить семейный полиморфизм гена ADRB2 у детей с бронхиальной астмой в городе Перми.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование 44 детей с бронхиальной астмой (БА) и одного из родителей ребенка. Исследовали образцы крови на фильтровальной бумаге и определяли два полиморфизма (Arg16Gly и Gln27Glu) гена ADRB2.

**Результаты.** Частота встречаемости мутационных вариантов гена ADRB2 жителей города Перми (Arg16Gly – 45,5 %, Gln27Glu – 27,2 %) сопоставима с частотой встречаемости в европейской популяции (Arg16Gly – 37–41 %, Gln27Glu – 24–30 %), но отличается от показателей в азиатской популяции (Arg16Gly – 73 %, Gln27Glu – 52,3 %). Наиболее частый вариант полиморфизма у жителей города Перми по Arg16Gly – вариант с мутацией (GG – 45,5 %), а по Gln27Glu – вариант без мутации (AA – 36,4 % и CG – 36,4 %). Прослеживается ассоциация наличия мутации между детьми с БА и их матерями.

**Выводы.** Мутация в гене ADRB2 у детей с БА встречается чаще в 2 раза по Arg16Gly и в 3 раза по Gln27Glu, чем у практически здоровых детей. У трети детей с БА встречается одновременно мутация Arg16Gly и Gln27Glu, причем Gln27Glu всегда в комбинации с Arg16Gly. Причиной обострения БА в группе детей с мутациями гена чаще является контакт с аллергеном, а у детей без мутации – респираторные инфекции. Семейный характер полиморфизма гена ADRB2 прослеживается лишь у 27,5 % детей с БА.

**Ключевые слова.** Бронхиальная астма,  $\beta_2$ -адренорецептор, полиморфизм гена  $\beta_2$ -адренорецептора, Arg16Gly, Gln27Glu.

© Пономарёва М. С., Фурман Е. Г., Хузина Е. А., Ярулина А. М., Жданович Е. А., 2015

e-mail: furman1@yandex.ru

тел. 8 (342) 217 09 40

[Пономарёва М. С. – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской педиатрии; Фурман Е. Г. (\*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор, проректор по науке, заведующий кафедрой факультетской педиатрии; Хузина Е. А. – кандидат медицинских наук, врач-пульмонолог; Ярулина А. М. – врач-педиатр; Жданович Е. А. – врач-педиатр].

**Aim.** To study the family polymorphism of ADRB2 gene in children with bronchial asthma, living in the city of Perm.

**Materials and methods.** Forty four children with bronchial asthma (BA) and one of child parents underwent complex clinicolaboratory examination. Blood samples were studied on filter paper and two ADRB2 gene polymorphisms (Arg16Gly and Gln27Glu) were determined.

**Results.** Occurrence rate of ADRB2 gene mutation variants among the citizens of Perm (Arg16Gly – 45,55, Gln27Glu – 27,2 %) is comparable with occurrence rate in the European population (Arg16Gly – 37–41 %, Gln27Glu – 24–30 %), but differs from the Asian population indices (Arg16Gly 73 %, Gln27Glu 52,3 %). The most frequent variant of Arg16Gly polymorphism in Perm population is the variant with mutation (GG – 45,5 %), but Gln27Glu – the variant without mutation (AA – 36,4 % and CG – 36,4 %). There is observed an association of mutation available in BA children and their mothers.

**Conclusions.** Mutation in ADRB2 gene at Arg16Gly occurs two-fold more often and at Gln27Glu – three-fold in BA children, than in practically healthy children. In one third of BA children, Arg16Gly and Gln27Glu mutation is simultaneous, moreover, Gln27Glu is always in combination with Arg16Gly. The reason for BA exacerbation in the group of children with gene mutations is more often contact with allergen, and in children without mutation – respiratory infections. Family character of ADRB2 gene polymorphism is detected only in 27,5 % of BA children.

**Key words.** Bronchial asthma,  $\beta_2$ -adrenoreceptor, gene  $\beta_2$ -adrenoreceptor polymorphism, Arg16Gly, Gln27Glu.

## ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) – это хроническое аллергическое заболевание бронхов. Известно, что к развитию БА имеет отношение большое число генов. В настоящее время генетические исследования при БА направлены на выявление вариантов генов, которые могут предсказать ответ на терапию, выявление вариантов генов, которые связаны с развитием болезни (оценка риска) и играют решающую роль в патофизиологии заболевания, оценку тяжести заболевания [1, 2, 4, 6, 8, 13, 16, 19].

Исследования молекулярно-генетических основ БА позволили установить важную роль полиморфизма многих генов, в том числе генов интерлейкинов и их рецепторов (IL4, IL5, IL4RA и др.), гена В-субъединицы высокоаффинного рецептора к IgE (FCER1B), гена  $\beta_2$ -адренергического рецептора (ADRB2) в подверженности людей к развитию этого заболевания [4, 5, 12, 17, 18].

Прогноз БА должен основываться на оценке комплекса генов, персональных факторов и факторов риска окружающей среды, вместе содействующих ее развитию, персистенции, прогрессированию или ремиссии.

$\beta_2$ -адренергический рецептор локализован на гладкомышечных клетках бронхов,

нейтрофилах, эозинофилах и макрофагах. Стимуляция этого рецептора  $\beta_2$ -агонистами и циркулирующими катехоламинами приводит к дилатации дыхательных путей, поэтому  $\beta_2$ -агонисты широко применяются в терапии БА [14, 15, 20].

Изменение функциональной активности рецептора зафиксировано у экспериментальных животных и у людей с тяжелой БА [4, 5]. Он играет важную роль в сократительности дыхательных путей, поэтому мутации кодирующего его гена могут вносить вклад в развитие астмы [6, 13, 15].

Ген  $\beta_2$ -адренергического рецептора (ADRB2) относится к генам рецепторных молекул, контролирующих лабильность бронхов. В кодирующей части гена ADRB2, расположенного на хромосоме 5q31, выявлены 9 полиморфизмов, 3 из которых (Arg16Gly, Gln27Glu, Thr164Ile) изменяют функциональные особенности рецептора, ассоциированы с астматическими фенотипами и эффективностью терапии  $\beta_2$ -адреномиметиками.

Arg16Gly – международный код полиморфизма: rs1042713. Названия полиморфизма: A46G, Arg16Gly (замена нуклеотида аденина на гуанин, приводящая к замене аминокислоты аргинина на глицин в белке). Частота встречаемости мутантного варианта гена в европейской популяции – 37–41 %.

Gln27Glu – международный код полиморфизма: rs1042714. Названия полиморфизма: C79G, Gln27Glu (замена нуклеотида цитозина на гуанин, приводящая к замене аминокислоты глутамина на глутаминовую кислоту в белке). Частота встречаемости мутантного варианта гена в европейской популяции – 24–30 %.

Больные, гомозиготные по этим вариантам гена, быстро теряют чувствительность к  $\beta_2$ -агонистам и нуждаются в гормональных препаратах. В то же время установлено, что Gly16-форма рецептора существенно быстрее деградирует при действии  $\beta$ -адреномиметиков по сравнению с Arg16 и ассоциирована с ночной БА. Именно поэтому полагают, что больные БА, получающие терапию препаратами этой группы, быстро становятся нечувствительными к ней и нуждаются в лечении глюкокортикоидами. Сходные данные получены и для Glu27 – эта форма рецептора более устойчива к действию  $\beta$ -адреномиметиков, поэтому больные БА, гомозиготные по Glu27, отличаются пониженной чувствительностью дыхательных путей к метахолину [8].

Замену Thr164Ile при БА наблюдают очень редко, в то время как при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) по результатам Copenhagen general population study было выявлено, что генотип Thr164/Ile164 ассоциирован со сниженной легочной функцией и повышенным риском развития этой патологии в общей популяции [7].

Следует отметить, что частоты «патологических» мутаций ADRB2 у больных БА и здоровых индивидов, по данным литературы, существенно не отличаются, кроме того, у здоровых лиц с фенотипами Gly16 и Glu27 легочная функция нормальна [1].

*Цель исследования* – определение семейного полиморфизма гена ADRB2 у детей Приволжского федерального округа России (г. Пермь) с установленным диагнозом бронхиальной астмы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено одномоментное поперечное исследование 44 детей в возрасте от 3 до 18 лет с установленным диагнозом БА. Средний возраст составил  $8,78 \pm 4,16$  г. Из них девочек – 23 %, мальчиков – 77 %. Распределение по тяжести течения БА: 95,5 % – легкое, 4,5 % – среднетяжелое. Сорок детей обследовались в паре с одним из родителей, имеющих аллергические заболевания, а в случае отсутствия аллергии – в паре с матерью (85 % – в паре с матерями, 15 % – с отцами). Для сравнения использовали 58 практически здоровых детей города Перми, обследованных в центре здоровья МУЗ «Городская детская поликлиника № 2». Средний возраст –  $6,05 \pm 3,5$  г. Мальчики составили 59 %, а девочки – 41 %. На момент осмотра дети не имели жалоб на кожные высыпания, кашель, одышку. Из анамнеза известно, что у детей отсутствовали аллергические кожные и респираторные заболевания.

Условия: исследование проводилось в 2013 г. на базе пульмонологического отделения городской детской клинической больницы № 15. Согласно Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации всем родителям было предоставлено информированное согласие на обследование ребенка, которое было ими подписано. Критерии исключения: дети с неустановленным диагнозом бронхиальной астмы, с рецидивирующим обструктивным бронхитом.

Сбор образцов крови осуществляли на фильтровальную бумагу для определения двух полиморфизмов в гене ADRB2 у детей с БА в период обострения и ремиссии и у одного из родителей ребенка. В ходе обследования пациентов были заполнены анкеты со слов родителей, проанализированы амбулаторные карты, истории болезни, изучены лабораторные данные. Проводился забор крови из пальца, осуществлялся физикальный осмотр с изучением функции

внешнего дыхания (ФВД). Определение двух полиморфизмов в гене ADRB2 Arg16Gly и Gln27Glu осуществлялось в лаборатории ЗАО «Синтол» (г. Москва) методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на оборудовании Real-time CFX96 C1000 Touch, Bio-Rad. Объектом исследования послужили образцы крови на фильтровальной бумаге.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли при помощи программы Statistica 10.0. Статистическую значимость различий долей различных вариантов генетического полиморфизма в группах больных бронхиальной астмой и практически здоровых изучали с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У 45,5 % детей с БА при изучении полиморфизма Arg16Gly выявлена мутация гена,

гетерозиготный вариант гена – у 36,4 %, вариант нормы – у 18,1 %. У практически здоровых детей чаще встречался гетерозиготный вариант (51,7 %), потом вариант с мутацией гена (25,9 %) и вариант нормы – 22,4 %. При изучении полиморфизма Gln27Glu у 27,2 % детей с БА выявлена мутация гена, гетерозиготный вариант – у 36,4 %, вариант нормы – у 36,4 %. У практически здоровых детей чаще встречался вариант нормы (46,6 %), гетерозиготный вариант – 44,8 %, вариант с мутацией – 8,6 % (табл. 1).

По нашим данным, у детей с БА по сравнению с практически здоровыми детьми достоверно чаще в полиморфизме Arg16Gly и Gln27Glu встречается вариант с мутацией в гене. Мутация одновременно Arg16Gly и Gln27Glu выявлена у 27,3 %. Характерно, что мутация полиморфизма Gln27Glu как у больных БА, так и у практически здоровых отдельно от Arg16Gly не встречается.

Таблица 1

**Распределение генотипов гена ADRB2 у детей с БА города Перми в сравнении с детьми без аллергии**

Вариант		Дети с БА (n = 44)		Здоровые (n = 58)	
		абс.	%	абс.	%
Arg16Gly	AA (норма)	8	18,1	13	22,4
	AG (гетерозигота)	16	36,4	30	51,7
	GG (мутация)	20	45,5*	15	25,9
Gln27Glu	AA (норма)	16	36,4	27	46,6
	AG (гетерозигота)	16	36,4	26	44,8
	GG (мутация)	12	27,2**	5	8,6

Примечание: \*  $p < 0,0320$  (критерий Фишера), \*\*  $p < 0,0079$  (критерий Фишера).

Частота встречаемости мутационных вариантов гена ADRB2 жителей города Перми (Arg16Gly – 45,5 %, Gln27Glu – 27,2 %) сопоставима с частотой встречаемости в европейской популяции (Arg16Gly – 37–41 %, Gln27Glu – 24–30 %), но отличается от показателей в азиатской популяции (Arg16Gly – 73 %, Gln27Glu – 52,3 %) [10].

Зависимости тяжести течения БА от полиморфизма гена Arg16Gly и Gln27Glu не было установлено, как и авторами приведенного выше исследования.

При сравнении результатов распределения генотипов гена ADRB2 у детей с БА с практически здоровыми детьми города Перми отмечается, что у каждого второго ребенка с БА в полиморфизме Arg16Gly встречается вариант с мутацией, у практически здоровых – у каждого третьего. Говоря о полиморфизме Gln27Glu, отметим, что мутация в гене у детей с БА отмечается в 3 раза чаще, чем у практически здоровых.

Достоверно установлено, что причиной обострения БА у 64 % ( $n = 12$ ) детей с мута-

циями гена является контакт с аллергеном, у 36 % ( $n = 8$ ) обострение возникает на фоне острой респираторной вирусной инфекции, у детей без мутации – 32 % ( $n = 7$ ) и 68 % ( $n = 17$ ) соответственно ( $p = 0,0398$  по критерию  $\chi^2$  Пирсона).

При изучении полиморфизма Arg16Gly наиболее часто встречалась комбинация мутации в гене и у ребенка, и у родителя (27,5 %), чаще в паре с матерями (91 %). Вариант комбинации в паре AA (родитель) и AG (ребенок) – 20 %, AG (родитель) и GG (ребенок) – 17,5 %. Отсутствие мутаций в парах наблюдалось у 10 % обследованных (табл. 2).

При изучении варианта Gln27Glu наиболее часто встречалась комбинация CC (родитель) и CC (ребенок) – 25 % ( $p < 0,01$  по критерию Z,  $p = 0,005$  по критерию Мак Ма-

ра). У 12,5 % обследуемых мутация наблюдалась одновременно у ребенка и родителя, чаще в паре с матерями (80 %) (табл. 3).

Мутация обоих вариантов полиморфизма отмечается у 12,5 % пар (наиболее часто в паре с матерью – 80 %), мутация отсутствует у – 10 %.

Мутация в паре в 2 раза чаще встречается по полиморфизму Arg16Gly. Таким образом, семейный характер полиморфизма гена ADRB2 прослеживается у 27,5 % обследуемых. Следует отметить, что мы смотрели детей в паре с одним из родителей, имеющих признаки аллергического заболевания, возможно, при обследовании обоих родителей эта цифра могла бы быть выше. По результатам нашего исследования большинство мутаций гена ADRB2 возникают de novo.

Таблица 2

**Распределение комбинаций варианта Arg16Gly у детей города Перми с БА в паре с одним из родителей**

Генотип у родителя	Генотип у ребенка	Общее количество ( $n = 40$ )	
		абс.	%
GG (мутация)	GG (мутация)	11	27,5*
AA (норма)	AG (гетерозигота)	8	20
AG (гетерозигота)	GG (мутация)	7	17,5
GG (мутация)	AG (гетерозигота)	5	12,5**
AA (норма)	AA (норма)	4	10
AG (гетерозигота)	AA (норма)	4	10
AG (гетерозигота)	AG (гетерозигота)	1	2,5*

Примечание: \* $p < 0,01$  по критерию Z; \*\* $p = 0,005$  по критерию Мак Мара.

Таблица 3

**Распределение комбинаций варианта Gln27Glu у детей города Перми с БА в паре с одним из родителей**

Генотип у родителя	Генотип у ребенка	Общее количество ( $n = 40$ )	
		абс.	%
CC (норма)	CC (норма)	10	25*
CC (норма)	CG (гетерозигота)	6	15
CG (гетерозигота)	GG (мутация)	6	15
GG (мутация)	GG (мутация)	5	12,5
CG (гетерозигота)	CC (норма)	5	12,5
CG (гетерозигота)	CG (гетерозигота)	4	10
GG (мутация)	CG (гетерозигота)	3	7,5
GG (мутация)	CC (норма)	1	2,5*

Примечание: \* $p < 0,01$ .

Ряд исследователей полагает, что частоты «патологических» мутаций ADRB2 у больных БА и здоровых индивидов существенно не отличаются, кроме того, у здоровых лиц с фенотипами Gly16 и Glu27 легочная функция нормальна, а бронхиальная гиперреактивность отсутствует, поэтому маловероятно, что эти мутации являются непосредственной причиной БА [9]. Продолжение исследования семейного полиморфизма гена ADRB2 может помочь в установлении факторов риска и прогноза БА у детей.

### Выводы

1. Мутация в гене ADRB2 у детей с БА встречается чаще, чем у практически здоровых: в 2 раза по Arg16Gly и в 3 раза по Gln27Glu.

2. У трети детей с БА встречается одновременно мутация обоих полиморфизмов, причем мутация полиморфизма Gln27Glu всегда в комбинации с мутацией полиморфизма Arg16Gly как у детей с БА, так и у практически здоровых.

3. Причиной обострения БА в группе детей с мутациями гена чаще является контакт с аллергеном, а у детей без мутации – респираторные инфекции.

4. Семейный характер полиморфизма гена ADRB2 прослеживается у 27,5 % детей с БА, мутация обоих полиморфизмов в парах встречается в 12,5 % случаев, наиболее часто в паре с матерями (80 %), большинство мутаций гена ADRB2 возникают de novo.

### Библиографический список

1. Асанов А. Ю., Намазова Л. С., Пинеллис В. Г., Журкова Н. В., Вознесенская Н. И. Генетические основы бронхиальной астмы. Педиатрическая фармакология 2008; 5 (4): 31–37.

2. Балаболкин И. И., Тюменцева Е. С. Генетика атопических болезней у детей.

Вестник Российской академии медицинских наук 2010; 4: 15–23.

3. Васьяковский Н. В. Полиморфизмы гена  $\beta_2$ -адренорецептора и их роль в нарушении функции легких при атопической бронхиальной астме: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск 2006.

4. Куренкеева А. К., Сооронбаев Т. М., Пак О. А. Гиперреактивность бронхов и ее связь с полиморфизмом гена  $\beta_2$ -адренорецепторов у больных бронхиальной астмой Кыргызской национальности. Пульмонология 2006; 1: 76–80.

5. Пономарева М. С., Фурман Е. Г., Жданович Е. А., Хузина Е. А., Ярулина А. М. Определение оксида азота и полиморфизма гена ADRB2 в дифференциальной диагностике бронхиальной астмы у детей. Материалы научной сессии 2015 года ПГМУ им. ак. Е. А. Вагнера. Пермь 2015; 100–101.

6. Пономарева М. С., Фурман Е. Г. Генетика бронхиальной астмы: полиморфизм гена ADRB2, available at: <http://fh-21.perm.ru/download/2013-4-12.pdf>

7. Огородова Л. М., Федорова О. С., Брагина Е. Ю. Генетические маркеры бронхиальной астмы у детей, больных атопическим дерматитом. Пульмонология 2007; 4: 37–40.

8. Фрейдлин М. Б., Брагина Е. Ю., Огородова Л. М., Пузырев В. П. Генетика атопии: современное состояние. Вестник ВОГиС 2006; 10 (3): 492–502.

9. Bai T. R. Abnormalities an airway smooth muscle in fatal asthma. Am. Rev. Respir. Dis. 1991; 143: 441–443.

10. Barnes K. C., Marsh D. G. The genetics and complexity of allergy and asthma. Immunol. Today 1998; 19: 325–332.

11. Esposito: Genetic polymorphisms and risk of recurrent wheezing in pediatric age. BMC Pulmonary Medicine 2014; 14: 162.

12. Hall I. P.  $\beta_2$ -adrenoreceptor polymorphisms and asthma. Monog. Allergy 1996; 33: 153–168.

13. *Holloway J. W., Yang I. A., Holgate S. T.* Genetics of allergic disease. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2010; 125: 81–94.
14. *Isaza C., Sepu' lveda-Arias J. C., Agudelo B. I.*  $\beta_2$ -adrenoreceptor polymorphisms in asthmatic and non-asthmatic schoolchildren from Colombia and their relationship to treatment response. *Pediatric Pulmonology* 2012; 47: 848–855.
15. *Liggett S. B.* Polymorphisms of the  $\beta_2$ -adrenergic receptor and asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156: 156–162.
16. *Meyers A. D.* Genetics of asthma and allergy: What have we learned? *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2010; 126: 439–446.
17. *Mitsuyasu H., Yamagibara Y., Mao X.-Q.* Dominant effect of Ile50Val variant of the human IL4 receptor – chain in IgE synthesis. *J. Immunol.* 1999; 162: 1227–1231.
18. *Symula D. J., Frazer K. A., Ueda Y. et al.* Functional screening of an asthma QTL in YAK transgenic mice. *Nature Genet.* 1999; 23: 241–244.
19. *Slager R. E., Hawkins G. A.* Genetics of asthma susceptibility and severity. *Clin. Chest. Med.* 2012; 33: 431–443.
20. *Thomsen M., Nordestgaard B. G., Sethi A. A., Tybjaerg-Hansen A., Dahl M.* Beta(2)-adrenergic receptor polymorphisms, asthma and COPD: two large population-based studies. *Eur. Respir. J.* 2012; 39 (3): 558–566.

Материал поступил в редакцию 1.09.2015