

Copyright © 2015 by Academic Publishing House *Researcher*

Published in the Russian Federation
European Journal of Medicine
Has been issued since 2013.
ISSN: 2308-6513
E-ISSN: 2310-3434
Vol. 7, Is. 1, pp. 15-21, 2015

DOI: 10.13187/ejm.2015.7.15
www.ejournal5.com



UDC 616.248-053.2-085.281:575

Management Features of Asthma in Children Under the Deletion Polymorphism of Genes *Gstt₁* and *Gstm₁*

¹ Elena C. Koloskova

² Tetiana M. Bilous

³ Roman I. Goncharuk

¹⁻³ Bukovinian State Medical University, Chernivtsy city, Ukraine

Department of Pediatrics and children infectious diseases

¹ PhD, Doctor of Medicine, Professor

² PhD

³ PhD

Abstract

It has been performed complex examination of 50 school-aged children with bronchial asthma, which included a study of acetylation phenotype and a determination of deletions in the genes of glutathione-S-transferase (*GSTM₁* and *GSTT₁*). The study has shown that in children with slow acetylation phenotype and the absence of deletions in genes *GSTT₁* and *GSTM₁* associates with poor control of the disease that requires increased anti-inflammatory therapy with an emphasis on higher "step". When using the ACT test for the assessment of asthma control often determined by the underestimation of their child's condition, indicating that about the need for the objectification of control of the disease with the help of spirographic method and subsequent correction of the basic therapy.

Keywords: bronchial asthma; children; deletion polymorphism of glutathione-S-transferase.

Введение

Общепризнанным на сегодня является то, что в основе патогенеза бронхиальной астмы (БА) лежит хроническое воспаление дыхательных путей с развитием иммунных нарушений, а достижение контроля над заболеванием, которое является целью лечения, требует проведения длительной противовоспалительной терапии. В последние годы «Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы» [1], национальные протоколы оказания медицинской помощи населению [2] понятие «достижения контроля над болезнью» определяют как конечную цель адекватной терапии. Профилактическое (базисное, противовоспалительное, контролирующее) лечение БА охватывает следующие группы препаратов: ингаляционные и системные глюкокортикостероиды (ИГКС и СГКС), антилейкотриеновые препараты, пролонгированные метилксантины, антитела к IgE, а также ингаляционные β₂-агонисты замедленного высвобождения, которые рассматривают как средства базисной терапии только в комбинации с ИГКС.

Вместе с тем, базисная терапия БА у детей, которая направлена на уменьшение активности воспаления дыхательных путей и клиническое достижение и длительное удержание контроля над заболеванием, постоянно сопровождается недостаточной

эффективностью стандартных схем. Одними из важных факторов, влияющих на эффективность данной терапии, является генотип и фенотипические особенности организма ребенка, которые не учитываются стандартными лечебными схемами, несмотря на то, что пациенты с различными гено- и фенотипами заболевания требуют индивидуализированного подхода к симптоматическому и профилактическому лечению. Однако генетическая компонента является одной из весомых в достижении контроля над заболеванием [3], поскольку она формирует определенный фенотип БА, предопределяет особенности ответа на стимулы внешней среды и ответ на медикаментозную терапию [4-5]. Так, показано, что распространенность делеций генов *GSTM1* и *GSTT1* увеличивается у пациентов с БА, что позволило сделать вывод об увеличении риска формирования БА и снижение функции легких при наличии полиморфизма данных генов [6-7]. Выявлены определенные связи *GSTM1* и *GSTP1* генотипов с показателями форсированного объема выдоха, хотя четкое патогенетическое объяснение влияния данных генов в научной литературе пока не освещено [8-9]. Известно, что N-ацетилтрансфераза участвует не только в реакциях второй фазы биотрансформации ксенобиотиков и метаболизме веществ, содержащих в своей молекуле аминогруппы [10], но и играет важную роль в метаболизме эндогенных субстратов, которые регулируют процессы бронхоспазма и запускают воспалительную реакцию, таких как серотонин, дофамин, лейкотриен E₄ [11].

Цель работы

Изучить особенности базисной противовоспалительной терапии, а также ее эффективность у детей при наличии или отсутствии делеционного полиморфизма генов, кодирующих ферменты второй фазы детоксикации ксенобиотиков *GSTT1* и *GSTM1*, а также с учетом их ацетиляторного статуса.

Материалы и методы

С соблюдением принципов биоэтики комплексно обследовано 32 ребенка школьного возраста с БА, которых по результатам определения делеций в генах *GSTT1* и *GSTM1* и скорости ацетиляторных процессов распределяли на 2 клинические группы сравнения. В состав первой группы вошли 18 больных с признаками быстрых ацетиляторов и отсутствием делеций в изученных генах, кодирующих глутатион-S-трансферазы T₁ и M₁ (генотип *GSTT1*+M₁+). Вторую (II) группу сравнения образовали 15 больных с генотипом *GSTT1*+M₁-, *GSTT1*-M₁+ и *GSTT1*-M₁- и признаками медленного ацетиляторного статуса. По основным клиническим характеристикам группы были сопоставимы. Так, дебют заболевания в раннем детском возрасте отмечено в 21,0 % детей первой группы и среди 33,3 % случаев во II группе сравнения, в дошкольном возрасте – у 15,79 % и 13,3 % больных соответственно, а в школьном – в 63,16 % и 53,3 % наблюдения соответственно (во всех случаях P>0,05).

Для выявления делеций в генах *GSTT1* и *GSTM1* проводили исследования пробы капиллярной крови методом мультиплексной полимеразной цепной реакции на кафедре молекулярной генетики и биотехнологии Черновицкого национального университета им. Ю. Федьковича.

Тип ацетилирования определяли по результатам сульфадимезиновой пробы мочи [12] фотоэлектроколориметрическим методом. Выход ацетилированного сульфадимезина определяли по разнице между общей и свободной фракциями, в частности, больных с содержанием ацетилированного сульфадимезина менее 75 % относили к медленным «ацетиляторам», а более 75 % к быстрым [13].

Уровень контроля БА определяли с помощью преемник опросников:

1) АСТ-тест (Asthma Control Test), который содержит 7 вопросов (на 3 из которых отвечают родители) для детей до 11 лет и 5 – для пациентов старше 12 лет. Ответы на каждый вопрос оценивали от 1 до 5 баллов. Общая сумма баллов, превышающее 20, свидетельствует о полном контроле, от 16 до 19 баллов – о частичном контроле, 15 и менее баллов – об отсутствии контроля над заболеванием.

2) GINA-тест, который содержит шесть вопросов с альтернативными ответами. Отсутствие дневных, ночных симптомов, физических ограничений, использование быстродействующих β₂-агонистов менее 2 раз в неделю и показатель ОФВ₁ выше 80 % оценивались в один балл, два балла насчитывали при наличии приведенных выше

характеристик и уровню ОФВ₁ менее 80 % от возрастной нормы. Следовательно, сумма в 5 и более баллов свидетельствовала о полном контроле над заболеванием, 6–8 баллов – о частично контролируемой, а выше 8 баллов – о неконтролируемой БА.

3) Клинико-инструментальная оценочная шкала (КИО), предусматривающая ответы на 7 вопросов, которые оценивали от 0 до 4 баллов, и показатели функции внешнего дыхания – ОФВ₁ и ПОС. Достижения 10 и менее баллов позволяло идентифицировать контролируемую БА, 11–16 баллов ассоциировало с частичным, а выше 17 баллов – с неконтролируемым течением БА.

Результаты исследования и их обсуждение

Показано, что атопическая форма БА преобладала в группе пациентов с измененными процессами II фазы биотрансформации ксенобиотиков, а смешанная – у детей с быстрым ацетиляторным фенотипом и без делеционных изменений в изученных генах. Так, атопическая форма встречалась в I группе в 36,8 %, а смешанная – в 63,2 % наблюдений, а в группе сравнения данное распределение было следующим: 86,7 % и 13,3 % (во всех случаях $P < 0,001$). Итак, следует ожидать, что эффективность базисной терапии, направленной, в первую очередь, на контроль атопического воспалительного процесса, будет отличаться лучшими показателями во II группе.

Вместе с тем, в I клинической группе среднетяжелое персистирующее течение БА отмечено в 57,9 % случаев, тяжелое – в 42,1 % наблюдений, а легкого персистирования заболевания вообще не наблюдалось. Во второй группе сравнения легкое персистирование астмы было в 6,7 % случаев, а среднетяжелое и тяжелое – соответственно в 40,0 % и 53,33 % наблюдений (во всех случаях $P > 0,05$). Итак, у детей с измененной эффективностью системы детоксикации ксенобиотиков, возможно, за счет делеционных изменений в генах семейства глутатион-S-трансферазы и медленного процесса ацетилирования аллергенов и других ксенобиотиков, отмечена тенденция к более тяжелому течению заболевания.

Аналогичные тенденции, отмеченные в особенностях базисного противовоспалительного лечения, согласно международной глобальной инициативы GINA [1], свидетельствовали о необходимости активной контролирующей терапии у детей II группы сравнения. Так, терапию в пределах 1 степени получали 22,2 % больных I группы и только 13,3 % детей II группы сравнения, лечебные мероприятия в рамках 2 степени назначали почти 1/3 больных I группы и половине детей во II группе (соответственно 27,8 % и 46,8 %), а лечение, предусмотренное 3 ступенькой, получала половина представителей первой группы и 26,7 % представителей II, а меры, которые входят в 4 ступень, – только 13,3 % больных II клинической группы сравнения. Базисное лечение в виде монотерапии ИГКС получали 77,8 % представителей I клинической группы и 86,7 % больных группы сравнения ($P > 0,05$), а соединенную с пролонгированным β_2 -агонистами терапию – 14,3 % и 23,1 % пациентов ($P > 0,05$). Среди больных без делеционного полиморфизма генов при наличии быстрого ацетиляторного фенотипа беклометазона дипропионат принимали 78,6 %, будесонид – лишь 7,1 % больных, столько же детей получали флютиказон и сочетали различные препараты. В группе пациентов с изменениями в системе детоксикации ксенобиотиков данные препараты базисной противовоспалительной терапии назначались со следующей частотой: беклометазона дипропионат – в 76,9 % случаев ($P > 0,05$), флютиказона пропионат – в 23,1 % наблюдений ($P < 0,05$). Итак, пациентам с имеющимися делеционными изменениями изученных генов и медленными процессами ацетилирования чаще назначался флютиказона пропионат и сочетали ИГКС и β_2 -агонистами замедленного высвобождения.

Вместе с тем, средняя суточная доза ИГКС препаратов имела тенденцию к более высоким показателям у больных без делеционного полиморфизма изученных генов при быстром ацетиляторном фенотипе. Так, средняя суточная доза ИГКС у представителей первой группы составляла ($289,29 \pm 39,63$) мкг, а во II группе сравнения – ($244,23 \pm 36,05$) мкг ($P > 0,05$).

Исходя из того, что более половины детей II группы сравнения имели признаки тяжелого персистирования БА, и только 13,3 % получали терапию в соответствии с четвертой ступени, стоило подробнее рассмотреть состав комплексной противовоспалительной терапии. В таблице приведен качественное распределение частоты использования низких, средних и высоких доз ИГКС у детей групп сравнения в качестве препаратов базисной противовоспалительной контролирующей терапии БА.

Таблица 1

Частота использования разных доз ИГКС в базисном лечении БА в клинических группах сравнения (P±m)

Клинические группы	Количество больных	ИГКС не использовали	Низкие дозы ИГКС	Средние дозы ИГКС	Высокие дозы ИГКС
I группа	18	22,2	42,9	35,7	21,4
II группа	15	13,3	61,5	30,8	7,7
P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примечание: P – достоверность разницы

Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, прослеживается четкая тенденция к преобладанию использования низких доз ИГКС во II группе сравнения, среди представителей которой высокие дозы данных препаратов применялись почти втрое реже, чем у детей с сохранившимися процессами биотрансформации ксенобиотиков. Не установлено статистически значимых различий по частоте применения ИГКС в течение суток в группах сравнения ($1,67 \pm 0,26$) раз в сутки на ($1,6 \pm 0,2$) раз в сутки ($P > 0,05$). Вместе с тем, однократно 14,3 % детей первой группы и 23,1 % представителей II клинической группы получали ИГКС в режиме однократной ингаляции ($P > 0,05$), дважды в сутки данные базисные препараты получали – 57,1 % и 69,2 % больных ($P > 0,05$), а три раза в сутки – 28,6 % и 7,7 % больных клинических групп сравнения соответственно ($P < 0,05$).

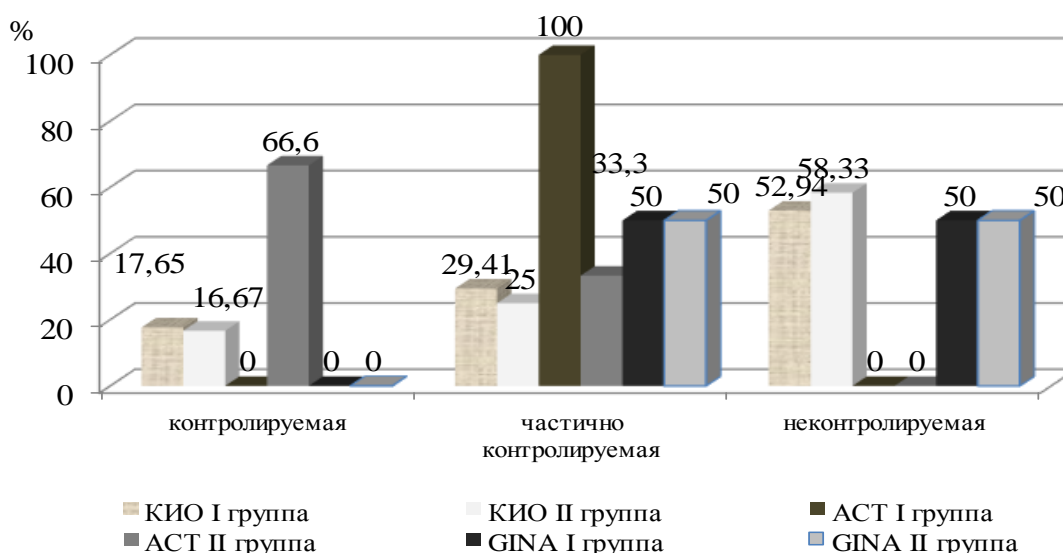


Рис. 1. Частота регистрации разных по уровню контроля вариантов течения бронхиальной астмы у детей клинических групп сравнения

При оценке степени контроля над заболеванием по опроснику GINA в I группе полученные результаты совпали и распределились пополам между частично контролируемой и неконтролируемой БА. По АСТ-тесту в I группе у детей до 11 и старше 12 лет в 100% случаев течение астмы оказалось частично контролируемым. Зато по результатам КИО шкалы контролируемое течение БА случалось в данной группе у 17,6 % больных, частично контролируемая астма – в 29,4 %, а неконтролируемое заболевание – в 52,9% наблюдений.

В группе больных с делеционным полиморфизмом генов GSTT1 и GSTM1 и медленным ацетиляторным статусом при АСТ-тесте у всех детей до 11 лет течение астмы оказалось частично контролируемым (как и в первой группе), у старших 12 лет больных в 33,3 % случаев течение астмы признано частично контролируемым, а у остальных 66,6 % – контролируемым. Однако по результатам КИО контролируемая БА имела место в 16,7 % случаев ($P > 0,05$), частично контролируемая – в 25,0 % ($P > 0,05$), а неконтролируемая

– в 58,3 % наблюдений ($P > 0,05$). На рисунке приведены результаты оценки контролируемости БА у детей в зависимости от наличия или отсутствия в них делеционного полиморфизма генов GSTT1 и GSTM1 с учетом скорости ацетиляторных процессов.

Итак, наибольшее количество случаев контролируемого течения БА позволял установить АСТ-тест, а неконтролируемого варианта - КИО шкала, что, видимо, связано с недооценкой своего состояния (в частности, подростками в возрасте старше 12 лет) при использовании опросника АСТ и одновременно объективизацией результатов опроса с помощью спирометрических исследований при использовании КИО шкалы. Как и последняя шкала, так и опросник GINA, позволили установить в половине случаев наличие неконтролируемого течения БА у представителей обеих клинических групп сравнения, что требует коррекции рекомендованных мероприятий базисной терапии.

Выводы

1. У больных бронхиальной астмой школьников при наличии делеционного полиморфизма генов GSTT1 и GSTM1 в сочетании с медленным ацетиляторным фенотипом необходимо усиливать противовоспалительную терапию с акцентом на более высокую «ступеньку» или путем добавления других противовоспалительных препаратов.

2. У больных без делеционного полиморфизма изученных генов при быстром ацетиляторном фенотипе среднесуточные дозы ИГКС имеют тенденцию к преобладанию над таковыми у больных группы сравнения, а частота трехкратного их применения достоверно выше.

3. Неконтролируемое течение бронхиальной астмы в обеих клинических группах установлено у половины больных с помощью КИО шкалы и опросника GINA и ни в одном случае при использовании АСТ-теста свидетельствует о необходимости объективизации контроля над заболеванием с помощью спирографического метода.

Примечания:

1. Global strategy for asthma management and prevention (GINA 2014) [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA_Report_2014_Aug12.pdf.

2. Наказ МОЗ України № 868 від 08.10.2013 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги. Бронхіальна астма». 2013. Режим доступу – http://moz.gov.ua/ua/portal/dn_20131008_0868.html.

3. Pharmacologic or genetic manipulation of glutathione S-transferase P1-1 (GSTP1) influences cell proliferation pathways / J.E. Ruscoe, L.A. Rosario, T. Wang [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001. Vol. 298. P. 339–345.

4. A new perspective on concepts of asthma severity and control / D.R. Taylor, E.D. Bateman, L-P. Boulet [et al.] // Eur. Respir. J. 2008. Vol. 32, N. 3. P. 545-554.

5. Contribution of ADAM33 polymorphisms to the population risk of asthma / J. Blakey, E. Halapi, U.S. Bjornsdottir [et al.] // Thorax. 2005. Vol. 60. P. 274-276.

6. The GSTP1 gene is a susceptibility gene for childhood asthma and the GSTM1 gene is a modifier of the GSTP1 gene / F. Kamada, Y. Mashimo, H. Inoue [et al.] // Int. Arch. Allergy Immunol. 2007. Vol. 144 (4). P. 275-286.

7. Ivaschenko T.E. Glutathione- S-transferase micro and theta gene polymorphisms as new risk factors of atopic bronchial asthma / T.E. Ivaschenko, O.G. Sideleva, V.S. Baranov // J. Mol. Med. 2002. Vol. 80. P. 39–43.

8. GSTM1 and GSTP1 gene variants and the effect of air pollutants on lung function measures in South African children / P. Reddy, R.N. Naidoo, T.G. Robins [et al.] // Am. J. Ind. Med. 2012. Vol. 55 (12). P. 1078-1086.

9. Carolan B.J. Clinical phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease and asthma: Recent advances / B.J. Carolan, E.R. Sutherland // The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2013. Vol. 131, Iss. 3. P. 627-634.

10. Windmill K.F. Localization of N-acetyltransferases NAT1 and NAT2 in human tissues / K.F. Windmill, A. Gaedigk // Toxicological Sciences. 2000. Vol. 54. P. 19-29.

11. Аллель NAT2*5 – фактор устойчивости к заболеванию бронхиальной астмой у детей / С.И. Макарова, В.А. Вавилин, В.В. Ляхович [и др.] // Бюллетень экспериментальной

биологии и медицины. 2000. № 6. С. 677-680.

12. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. М.: Медицина, 1971. С. 454-457.

13. Клиническая оценка активности N-ацетилтрансферазы у детей с различными формами диффузных болезней соединительной ткани / Т.М. Ермакова, В.Л. Ковалева, Е.Г. Брежнева [и др.] // Педиатрия. 1983. № 11. С. 10-13.

References:

1. Global strategy for asthma management and prevention (GINA 2012) [Elektronni resurs]. Rezhim dostupu: http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA_Report_2014_Aug12.pdf.

2. Nakaz MOZ Ukraïni № 868 vid 08.10.2013 r. «Unifikovani klinichnii protokol pervinnoi, vtorinnoi (spetsializovanoi) medichnoi dopomogi. Bronkhial'na astma». 2013. Rezhim dostupu: http://moz.gov.ua/ua/portal/dn_20131008_0868.html.

3. Pharmacologic or genetic manipulation of glutathione S-transferase P1-1 (GSTpi) influences cell proliferation pathways / J.E. Ruscoe, L.A. Rosario, T. Wang [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001. Vol. 298. P. 339-345.

4. A new perspective on concepts of asthma severity and control / D.R. Taylor, E.D. Bateman, L-P. Boulet [et al.] // Eur. Respir. J. 2008. Vol. 32, N. 3. P. 545-554.

5. Contribution of ADAM33 polymorphisms to the population risk of asthma / J. Blakey, E. Halapi, U.S. Bjornsdottir [et al.] // Thorax. 2005. Vol. 60. P. 274-276.

6. The GSTP1 gene is a susceptibility gene for childhood asthma and the GSTM1 gene is a modifier of the GSTP1 gene / F. Kamada, Y. Mashimo, H. Inoue [et al.] // Int. Arch. Allergy Immunol. 2007. Vol. 144 (4). P. 275-286.

7. Ivaschenko T.E. Glutathione- S-transferase micro and theta gene polymorphisms as new risk factors of atopic bronchial asthma / T.E. Ivaschenko, O.G. Sideleva, V.S. Baranov // J. Mol. Med. 2002. Vol. 80. P. 39-43.

8. GSTM1 and GSTP1 gene variants and the effect of air pollutants on lung function measures in South African children / P. Reddy, R.N. Naidoo, T.G. Robins [et al.] // Am. J. Ind. Med. 2012. Vol. 55 (12). P. 1078-1086.

9. Carolan B.J. Clinical phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease and asthma: Recent advances / B.J. Carolan, E.R. Sutherland // The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2013. Vol. 131, Iss. 3. P. 627-634.

10. Windmill K.F. Localization of N-acetyltransferases NAT1 and NAT2 in human tissues / K.F. Windmill, A. Gaedigk // Toxicological Sciences. 2000. Vol. 54. P. 19-29.

11. Allel' NAT2*5 – faktor ustoichivosti k zabolevaniyu bronkhial'noi astmoi u detei / S.I. Makarova, V.A. Vavilin, V.V. Lyakhovich [i dr.] // Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny. 2000. № 6. S. 677-680.

12. Pershin G.N. Metody eksperimental'noi khimioterapii. M.: Meditsina, 1971. С. 454-457.

13. Klinicheskaya otsenka aktivnosti N-atsetiltransferazy u detei s razlichnymi formami diffuznykh boleznei soedinitel'noi tkani / T.M. Ermakova, V.L. Kovaleva, E.G. Brezhneva [i dr.] // Peditriya. 1983. № 11. S. 10-13.

УДК 616.248-053.2-085.281:575

Особенности менеджмента бронхиальной астмы у детей при аллельном полиморфизме генов *gstt₁*, *gstm₁*

¹ Елена Константиновна Колоскова

² Татьяна Михайловна Белоус

³ Роман Ильич Гончарук

¹⁻³ Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина

¹ Доктор медицинских наук, профессор

² Кандидат медицинских наук, доцент

E-mail: tanja.vorotnjak@gmail.com

³ Кандидат медицинских наук

Аннотация. Обследовано 50 детей школьного возраста с бронхиальной астмой, которым определяли ацетиляторный фенотип и наличие делеций в генах глутатион-S-трансферазы GSTT1 и GSTM1. Показано, что у детей с медленным ацетиляторным фенотипом и делеционным полиморфизмом генов GSTT1 и GSTM1 чаще отмечается плохой контроль над заболеванием, что требует усиления противовоспалительной терапии с акцентом на более высокую «ступеньку». При использовании АСТ-теста для оценки уровня контроля бронхиальной астмы чаще определяется недооценка своего состояния ребенком, что свидетельствует про необходимость объективизации контроля над заболеванием с помощью спирографического метода и последующей коррекции базисной терапии.

Ключевые слова: бронхиальная астма; дети; делеционный полиморфизм глутатион-S-трансферазы.