© Коллектив авторов, 2018
УДК 616.234-002-575
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13050>
ISSN – 2073-8137

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ARG25PRO ГЕНА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА $\beta 1$ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

А. А. Лебеде́нко¹, Т. П. Шкурат², Е. В. Машкина², О. Е. Семерник¹, Т. К. Дрейзина²

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

² Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

THE STUDY OF ARG25PRO POLYMORPHISM GENE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR $\beta 1$ IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

Lebedenko A. A.¹, Shkurat T. P.², Mashkina E. V.², Semernik O. E.¹, Drejzina T. K.²

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

² Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Цель исследования: изучить роль полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β 1* в патогенезе БА у детей. Проведено исследование ассоциации полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β* с риском развития БА у детей. Результаты генетического анализа сопоставлены с содержанием *TGF β 1* в сыворотке крови пациентов. При исследовании полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β 1* было отмечено, что среди обследованных пациентов преобладают гомозиготы по аллели *Arg25*. Частота гетерозигот *Arg25Pro* среди группы детей, страдающих БА, в 3,08 раза ниже по сравнению со здоровыми детьми. При этом установлена ассоциация полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β 1* с повышенным риском развития БА у детей. Показано, что у пациентов с генотипом *ArgArg* гена *TGF β 1* отмечается повышение концентрации *TGF β 1* в сыворотке крови ($132,08 \pm 77,28$ пг/мл) по сравнению с гетерозиготами ($88,47 \pm 86,26$ пг/мл) или больными, имеющими *ProPro* генотип ($94,77 \pm 92,48$ пг/мл).

Установлена ассоциация полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β 1* с повышенным риском развития БА у детей. Показана взаимосвязь данного полиморфизма гена с повышенным синтезом *TGF β 1*.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, ген, полиморфизм, трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (*TGF β 1*)

Objective: to study the role of polymorphism of *Arg25Pro* gene *TGF β 1* in the pathogenesis of asthma in children. We studied the association of *Arg25Pro* polymorphism of the *TGF β* gene with the risk of developing asthma in children. The results of the genetic analysis are compared with the content of *TGF β 1* in the blood serum of patients. When studying the *Arg25Pro* polymorphism of the *TGF β 1* gene, it was noted that among the examined patients homozygotes over the *Arg25* allele predominate. The frequency of heterozygotes *Arg25Pro* among the group of children suffering from asthma is 3.08 times lower in comparison with healthy children. The association of polymorphism of *Arg25Pro* gene *TGF β 1* with an increased risk of asthma in children has been established. It was shown that in patients with the *ArgArg* genotype of the *TGF β 1* gene, the concentration of *TGF β 1* in the blood serum was increased (132.08 ± 77.28 pg/ml), compared with heterozygotes (88.47 ± 86.26 pg/ml) or patients with *ProPro* genotype (94.77 ± 92.48 pg/ml).

The association of the *Arg25Pro* polymorphism of the *TGF β 1* gene with an increased risk of developing asthma in children has been established. The relationship of this gene polymorphism with increased synthesis of *TGF β 1* is shown.

Keywords: bronchial asthma, children, gene, polymorphism, transforming growth factor $\beta 1$ (*TGF β 1*)

Для цитирования: Лебеде́нко А. А., Шкурат Т. П., Машкина Е. В., Семерник О. Е., Дрейзина Т. К. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ARG25PRO ГЕНА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА $\beta 1$ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018;13(2):364-366. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13050>

For citation: Lebedenko A. A., Shkurat T. P., Mashkina E. V., Semernik O. E., Drejzina T. K. THE STUDY OF ARG25PRO POLYMORPHISM GENE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR $\beta 1$ IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA. *Medical News of North Caucasus*. 2018;13(2):364-366. (In Russ.). DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13050>

БА – бронхиальная астма
ОНП – однонуклеотидный полиморфизм

РХВ – равновесие Харди – Вайнберга
TGF- β – трансформирующий фактор роста β

Бронхиальная астма (БА) – это распространенное тяжелое хроническое заболевание бронхолегочной системы, имеющее высокую социальную значимость. В основе патогенеза БА лежит хроническое воспаление дыхательных путей, приводящее к структурному ремоделированию стенки бронхов. Получены многочисленные данные о том, что хронический, длительно протекающий воспалительный процесс приводит к необратимым морфологическим изменениям в виде резкого утолщения базальной мембраны с нарушением микроциркуляции и развитием склероза стенки бронхов [4]. Глубокие трофические нарушения характеризуются усиленным образованием новых сосудов, а также гиперплазией и метаплазией бокаловидных эпителиальных клеток, гипертрофией гладких мышц, увеличением подслизистых желез и отложением коллагена, а следовательно, уплотнением базальной мембраны и ремоделированием бронхиальной стенки.

При этом в процессах реорганизации дыхательных путей участвуют различные биологически активные вещества (факторы роста, цитокины, эндотелины), а также изменения вегетативного гомеостаза, поддерживающие, кроме того, и процесс воспаления [2, 6, 11]. Немаловажную роль в данных процессах играет трансформирующий фактор роста β (TGF- β), мультифункциональный фактор, который регулирует процессы пролиферации, дифференциации и миграции клеток, посредством влияния на синтез белков экстрацеллюлярного матрикса (коллагена I и III типов и фибронектина) контролирует ангиогенез и ремоделирование эндоплазматического ретикулаума [1].

Известно, что ген *TGF- β 1* находится на 19 хромосоме, содержит 7 экзонов и большое количество интронов. При этом всего в гене *TGF- β 1* идентифицировано 5 значимых однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП). Так, в ряде исследований была показана связь rs1800470 *TGF- β 1* (данного полиморфного локуса) с предрасположенностью к развитию заболеваний бронхолегочной системы. Установлено, что хромосомная область 19q13 имеет связь с атопическими заболеваниями [5]. Зарегистрирована ассоциация rs1800470 гена *TGF β 1* с БА: лица-носители *T* аллеля (*C*-509T) имели повышенный риск развития данного заболевания [7, 9]. Установлено также, что если мать в период внутриутробного развития плода злоупотребляла курением, дети с генотипом *TGF- β 1 C-509T* имеют повышенный риск развития БА [9]. Однако многие генетические аспекты развития БА до конца не изучены, поэтому важно дальнейшее исследование роли различных полиморфизмов гена *TGF β* в патогенезе данного заболевания.

Целью работы явилось изучение роли полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β 1* в патогенезе БА у детей.

Материал и методы. Были обследованы 40 пациентов, страдающих БА разной степени тяжести. Обследование проводилось на базе педиатрического отделения. Степень тяжести, уровень контроля, форма заболевания установлены в соответствии с рекомендациями, изложенными в Национальной программе «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики» (2017) [4]. Контрольную группу составили 53 здоровых ребенка I и IIa групп здоровья, сопоставимых по полу и возрасту.

Критерии включения: наличие подтвержденного диагноза БА, поставленного не ранее чем за 6 месяцев до обследования; отсутствие сопутствующей хронической патологии со стороны других органов и систем; наличие согласия на проведение исследова-

ния (у пациентов младше 15 лет – согласия родителей).

Критерии исключения: больные с неуточненным диагнозом БА; больные БА с другими хроническими и острыми заболеваниями легких (туберкулез, острый трахеобронхит, пневмония и др.); возраст пациентов старше 18 лет.

Всем обследуемым было проведено комплексное клиничко-инструментальное обследование: клинический осмотр, спирометрия с бронходилатационной пробой, аллергологическое обследование, лабораторная диагностика. Содержание TGF β ₁ в сыворотке крови определяли с помощью тест-системы «Трансформирующий фактор роста β 1 (TGF- β 1)» (Bender Medsystems), методом иммуноферментного анализа.

Всем пациентам проведено исследование ассоциации полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β* с риском развития БА. Материалом для генетического исследования послужили 73 образца ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови детей, больных БА и здоровых детей. ДНК из лейкоцитов периферической крови детей выделяли термокоагуляционным методом с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (Литех, Россия). Определение полиморфных вариантов исследуемых генов проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с использованием наборов реагентов SNP-экспресс (Литех, Россия).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием прикладных программ Microsoft Office, применялась компьютерная программа «STATISTICA 6.0». При нормальном распределении достоверность различий между группами определяли по критерию Стьюдента – *t*, при отличии распределения показателей от нормального использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (*M-U*). Достоверным считался результат при *t*>2, при котором *p*<0,05. Оценку различий в распределении полиморфных вариантов генов в обследованных группах осуществляли по критерию χ^2 .

Результаты и обсуждение. Установлено, что у большинства пациентов отмечалось легкое течение БА (76,67 %) и лишь у 7 (23,33 %) больных – среднетяжелое. При этом средний возраст обследованных детей составил 11,06±0,84 лет. Сопутствующая патология была отмечена у 85 % больных: аллергический ринит – у 75 %, атопический дерматит – у 14,28 % и крапивница у 1 ребенка. Противовоспалительные препараты получали большинство обследованных детей (76,66 %).

Анализ выявил значительное повышение концентрации TGF β ₁ в сыворотке крови у больных БА (116,21±51,59 пг/мл) по сравнению с контрольной группой (2,70±0,12 пг/мл, *p*=0,001). При этом у пациентов с легким течением БА средние значения TGF β ₁ составили 122,17±67,83 пг/мл, тогда как при среднетяжелом – 118,07±115,54 пг/мл.

При изучении генетических аспектов было установлено, что распределение частот генотипов и аллелей по всем исследуемым полиморфизмам соответствует равновесию Харди – Вайнберга в обеих группах детей (табл.). При исследовании полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGF β 1* было отмечено, что среди обследованных преобладают гомозиготы по аллели *Arg25*. Частота гетерозигот *Arg25Pro* в группе детей, страдающих БА, в 3,08 раза ниже по сравнению со здоровыми детьми. Частота гомозигот по аллели *25Pro* среди здоровых детей составляет 3,3 %, а среди больных детей частота генотипа *ProPro* составляет 14 %. При этом установлено, что у детей

с генотипом *ArgArg* повышен риск развития БА, *OR* составил 5,75 (1,85–17,83).

Таблица

Частота встречаемости генотипов и аллелей по полиморфизму *Arg25Pro* гена *TGFβ1* у пациентов с бронхиальной астмой и здоровых детей

Аллель, генотип <i>TGFβ1</i>	Больные n=30	Здоровые n=43	χ^2	P	OR	
					Знач.	95 % CI
<i>Arg25</i>	0,900	0,663	10,91	0,001	4,58	1,76–11,89
<i>25Pro</i>	0,100	0,337			0,22	0,08–0,57
<i>Arg/Arg</i>	0,833	0,465	10,18	0,006	5,75	1,85–17,83
<i>Arg/Pro</i>	0,133	0,395			0,24	0,07–0,79
<i>Pro/Pro</i>	0,033	0,140			0,21	0,02–1,87
<i>PXB</i> (χ^2)	2,02	0,57				

Полученные результаты согласуются с данными зарубежных авторов [7, 10]. Так, ряд исследователей считает, что ген *TGF-β1* относится к генам, регулирующим врожденный иммунный ответ и иммунорегуляцию при БА. Следовательно, *TGF-β1* имеет значение при росте и дифференцировке клеток дыхательных

путей во время воспалительного процесса при БА, то есть участвует в патогенезе астмы [8].

При этом в ходе проведенного исследования было установлено, что у пациентов с генотипом *ArgArg* гена *TGFβ1* отмечается повышение концентрации *TGFβ1* в сыворотке крови ($132,08 \pm 77,28$ пг/мл) по сравнению с гетерозиготами ($88,47 \pm 86,26$ пг/мл) или больными, имеющими *ProPro* генотип ($94,77 \pm 92,48$ пг/мл). Принимая во внимание тот факт, что *TGFβ1* – это белок, который контролирует пролиферацию, клеточную дифференцировку и другие функции в большинстве клеток, повышение его концентрации в сыворотке крови может привести к развитию необратимых морфофункциональных изменений в бронхолегочной системе. Следовательно, можно предположить, что у носителей генотипа *ArgArg*, страдающих БА, риск развития ремоделирования дыхательных путей значительно выше по сравнению с пациентами, имеющими *ProPro* генотип.

Заключение. Установлена ассоциация полиморфизма *Arg25Pro* гена *TGFβ1* с повышенным риском развития БА у детей. Показана взаимосвязь данного гена с повышенным синтезом *TGFβ1*. Полученные результаты могут быть использованы для целей ранней диагностики БА.

Литература/References

- Ильченко С. И., Фиалковская А. А., Иванусь С. Г. Значение уровня сывороточного трансформирующего фактора роста в ремоделировании бронхов у подростков-курльщиков. *Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). Медицинские науки*. 2015;10(19):224-230. [Ilchenko S. I., Fialkovskaya A. A., Ivanus S. G. The value of serum transforming growth factor level in bronchial remodeling in adolescent smokers. *Evrasyysky Soyuz Uchenykh (ESU). Meditsinskiye nauki*. – *Eurasian Union of scientists (EU). Medical science*. 2015;10(19):224-230. (In Russ.)].
- Лебеденко А. А., Семерник О. Е. Нейрогуморальные аспекты обострения бронхиальной астмы у детей. *Пульмонология*. 2013;5:36-39. [Lebedenko A. A., Semernik O. E. Neurohumoral aspects of bronchial asthma exacerbation in children. *Pulmonologiya*. – *Pulmonology*. 2013;5:36-39. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2013-0-5-36-39>
- Лебеденко А. А., Шкурят Т. П., Семерник О. Е., Машкина Е. В., Дрейзина Т. К. Полиморфизм гена фактора роста эндотелия сосудов у детей Ростовской области, страдающих бронхиальной астмой. *Валеология*. 2016;4:20-25. [Lebedenko A. A., Shkurat T. P., Semernik O. E., Mashkina E. V., Dreizina T. K. Polymorphism of the gene of the growth factor of the vascular endothelium in children of the Rostov region, suffering from bronchial asthma. *Valeologiya*. – *Valeology*. 2016;4:20-25. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18522/2218-2268-2016-4-20-25>
- Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики». 5-е изд., испр. и доп. М.: Изд. дом «Атмосфера», 2017. [National program «Bronchial asthma in children. The strategy of treatment and prevention». 5th ed., rev. and additional. Moscow: Izd. house «Atmosphere», 2017. (In Russ.)].
- Разводовская А. В., Черкашина И. И., Никулина С. Ю. [и др.]. Изучение ассоциации однонуклеотидного полиморфизма *rs1800470* гена трансформирующего фактора роста бета 1 (*TGF-β1*) с риском развития бронхиальной астмы. *Сибирское медицинское обозрение*. 2014;2:17-22. [Razvodovskaya A. V., Cherkashina I. I., Nikulina S. Yu., Shestovitsky V. A., Voevoda M. I., Maksimov V. N. Study of the association of single nucleotide polymorphism *rs1800470* of the gene transforming growth factor beta 1 (*TGF-β1*) with the risk of developing bronchial asthma. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye*. – *Siberian medical review*. 2014;2:17-22. (In Russ.)].
- Семерник О. Е., Лебеденко А. А. Особенности вегетативного реагирования у детей с бронхиальной астмой в периоде обострения заболевания. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015;70(2):222-226. [Semernik O. E., Lebedenko A. A. Features of vegetative response in children with bronchial asthma in the period of exacerbation of the disease. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. – *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015;70(2):222-226. (In Russ.)]. <https://dx.doi.org/10.15690/vramn.v70i2.1316>
- Lee S. Y., Lee Y. H., Shin C., Shim J. J., Kyung H. K., Se H. Y., Kwang H. I. Association of asthma severity and bronchial hyperresponsiveness with a polymorphism in the cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 gene. *Chest*. 2002;122(1):171-176.
- Li H., Wu H., Sienra-Monge J. J., Ramirez-Aguilar M., del Rio-Navarro B. E., del Lara-Sánchez I. C., Kistner E. O., Gjessing H. K., London S. J. Genetic polymorphisms in transforming growth factor beta-1 (*TGFB1*) and childhood asthma and atopy. *Hum. Genet*. 2007;121(5):529-538. <https://doi.org/10.1007/s00439-007-0337-z>
- Salam M. T., Gauderman W. J., McConnell R., Lin P. C., Gilliland F. D. Transforming growth factor-1 C-509T polymorphism, oxidant stress, and early-onset childhood asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2007;176(12):1192-1199. <https://doi.org/10.1164/rccm.200704-561OC>
- Sharma S., Raby B. A., Hunninghake G. M., Soto-Quirós M., Avila L., Murphy A. J., Lasky-Su J., Klanderman B. J., Sylvia J. S., Weiss S. T., Celedón J. C. Variants in *TGFB1*, dust mite exposure, and disease severity in children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2009;179:356-362. <https://doi.org/10.1164/rccm.200808-1268OC>
- Shkurat T. P., Lebedenko A. A., Mashkina E. V., Semernik O. E., Dreizina T. K. Vascular Endothelial Growth Factor: Genetic Aspects in Children with Asthma in the Rostov Region. *The Online Journal of Health and Allied Sciences*. 2016;15(4). Available at: www.ojhas.org/issue60/2016-4-7.html.

Сведения об авторах:

Лебеденко Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой детских болезней № 2; тел.: 88632504043; e-mail: leb.rost@rambler.ru

Шкурят Татьяна Павловна, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой генетики; тел.: 88632975070; e-mail: tshkurat@yandex.ru

Машкина Елена Владимировна, доктор биологических наук, доцент; тел.: 88632975070; e-mail: lenmash@mail.ru

Семерник Ольга Евгеньевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры детских болезней; тел.: 89185692681; e-mail: semernick@mail.ru

Дрейзина Татьяна Константиновна, магистрант; тел.: 89061847353; e-mail: taniad95@mail.ru