

УДК 616.24-006-07:577.21+575.1/.2'316

DOI: 10.14427/jipai.2017.3.30

## Роль полиморфных локусов Arg16Gly и Gln27Glu гена Adrb2 в патогенезе atopических заболеваний у детей Беларуси

Н.Н. Чакова<sup>1</sup>, Н.О. Воловик<sup>1</sup>, С.С. Ниязова<sup>1</sup>, Л.М. Беляева<sup>2</sup>, Н.В. Микульчик<sup>2</sup>, Д.В. Буза<sup>2</sup>, Ю.А. Мытько<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> ГУО «Белорусская медицинская академия последилового образования», Минск, Республика Беларусь

### The role of Adrb2 gene polymorphisms Arg16Gly and Gln27Glu in the pathogenesis of atopical diseases in children from Belarus

N.N. Chakova<sup>1</sup>, N.O. Volovik<sup>1</sup>, S.S. Niyazova<sup>1</sup>, L.M. Bialiyeva<sup>2</sup>, N.N. Mikulchik<sup>2</sup>, D.V. Buza<sup>2</sup>, Yu.A. Mytko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Genetics and Cytology NASB, Minsk, Belarus,

<sup>2</sup> Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Belarus

#### Аннотация

Целью работы являлось изучение вклада полиморфизма гена ADRB2 в патогенез atopических заболеваний у детей из Беларуси. Обследовано 276 детей с бронхиальной астмой, 111 пациентов с atopическим дерматитом и 214 здоровых индивидуумов. С использованием метода ПЦР-ПДРФ исследовали полиморфные локусы Arg16Gly (rs1042713) и Gln27Glu (rs1042714) гена ADRB2, кодирующего β2-адренорецептор. Обнаружена ассоциация аллеля 16Gly полиморфного варианта Arg16Gly с повышенным риском возникновения atopических заболеваний (OR=1,28, 95% CI 1,01-1,63). Генотип 16ArgArg является протективным в отношении развития данной патологии (OR=0,48, 95% CI 0,29-0,79). Установлена ассоциация генотипа 27GluGlu полиморфного локуса Gln27Glu с предрасположенностью к atopическому дерматиту (OR=1,89, 95% CI 1,09-3,30) и снижением вероятности присоединения бронхиальной астмы (OR=0,47, 95% CI 0,28-0,80). Полученные результаты могут быть использованы для прогноза возникновения и течения atopических заболеваний.

#### Ключевые слова

Предрасположенность к atopическим заболеваниям, генетический полиморфизм β2-адренорецептора

#### Введение

По данным эпидемиологических исследований от 10 до 30% детского населения страда-

#### Summary

The aim of the study was to investigate the role of ADRB2 gene polymorphism in the pathogenesis of atopical diseases in children from Belarus. A total of 276 children with atopical BA, 111 patients with atopical dermatitis and control sample from Belarus were analyzed. PCR-RFLP method was used for studying polymorphisms Arg16Gly (rs1042713) and Gln27Glu (rs1042714) of the ADRB2 coding β2-adrenoreceptor. The association of the 16Gly allele of polymorphic variant Arg16Gly with an increased risk of atopical diseases was found (OR = 1.28, 95% CI 1.01-1.63). The genotype 16ArgArg is protective for the development of pathology (OR = 0.48, 95% CI 0.29-0.79). The association of the genotype 27GluGlu of polymorphism Gln27Glu with predisposition to atopical dermatitis (OR = 1.89, 95% CI 1.09-3.30) and a decrease in the probability of bronchial asthma addition (OR = 0.47, 95% CI 0.28- 0.80) was revealed. The results obtained can be used to predict the atopical diseases onset and course.

#### Keywords

Predisposition to atopical diseases, β2-adrenoreceptor genetic polymorphism

ют atopическими заболеваниями (АЗ), причем цифра эта растет с каждым годом [1]. Среди АЗ у детей наиболее часто встречаются бронхиаль-

ная астма (БА) и atopический дерматит (АтД). АЗ относятся к многофакторным заболеваниям, ведущая роль в развитии которых принадлежит патологическому взаимодействию определенных наследственных и средовых факторов, приводящему к клинической манифестации болезни с последующим «аллергическим маршем», включающим формирование «атопической триады» (дерматит, астма, ринит) [2]. Первые проявления заболевания у детей часто сводятся к «пищевой аллергии», которая в дальнейшем реализуется в АтД у детей с повышенным уровнем IgE (при atopии). При тяжелом течении АтД через 4-5 лет у 35-40 % пациентов развивается БА, а у 45-50% – АР [3,4].

К настоящему времени получен достаточный объем данных о генетической предрасположенности к АЗ. Имеющиеся данные свидетельствуют в пользу того, что в патогенез АЗ вовлечено множество генов различных систем организма, каждый из которых в отдельности вносит определенный вклад в реализацию данной патологии [5]. Наиболее существенную роль в развитии заболеваний наряду с генетическими факторами, детерминирующие уровень IgE и непосредственно обуславливающих подверженность к atopии, играют гены, контролирующие степень бронхореактивности (BHR) [6]. Соотносительный вклад этих генов в патогенез АЗ, особенности их взаимодействия между собой и факторами внешней среды пока не ясны.

Ключевую роль в контрактильности дыхательных путей играет β2-адренергический рецептор, который обуславливает сократительную способность бронхов, благодаря чему является мишенью для β2-агонистов, широко применяемых для бронходилатации при atopической астме. Индивидуальную предрасположенность к возникновению БА, варибельность ответа на бета2-агонисты и развития толерантности к их бронходилатирующему эффекту в настоящее время связывают с полиморфизмом гена ADRB2, кодирующего β2-адренорецептор.

Ген ADRB2 расположен в 5q31-32 хромосомной области, содержит 413 аминокислот и не имеет интронов. К настоящему моменту в гене ADRB2 насчитывается более 200 полиморфных вариантов, из которых наиболее изученными являются несинонимичные нуклеотидные замены Arg16Gly, Gln27Glu, играющие важную роль в функционировании рецептора. Однако результаты ассоциативных исследований достаточно противоречивы: в ряде работ доказана значимость полиморфных локусов Arg16Gly,

Gln27Glu в патогенезе АЗ и в формировании ответа пациентов на терапию β2-агонистами, в других таких связях не установлено [7-9].

Целью работы стало изучение связи полиморфизма гена ADRB2 с патогенезом и прогнозом развития АЗ у детей из Беларуси.

#### Материалы и методы исследования

С использованием методов ПЦР-ПДРФ исследовали полиморфные локусы rs1042713 (Arg16Gly) и rs1042714 (Gln27Glu) гена ADRB2 у 387 детей с АЗ в возрасте от 3 до 18 лет. Всем детям на базе Центра детской аллергологии (УЗ «4-ая городская детская клиническая больница» г. Минска) проведено комплексное общеклиническое и аллергологическое обследование, включающее кожные скарификационные пробы с бытовыми, пищевыми, пыльцевыми и эпидермальными аллергенами. В рамках лабораторно-диагностического раздела иммунологическими методами проведено количественное определение общего и аллергенспецифических IgE в сыворотке крови. Все обследованные дети были разделены на подгруппы для сравнительного анализа: 1) 276 пациентов с БА и 2) 111 пациентов с АтД. Контрольную группу составили 214 человек соответствующего возраста I и II групп здоровья, не имеющие аллергических реакций и atopических заболеваний. Все обследованные дети проживали на территории Беларуси.

Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови проводили стандартным способом с использованием фенол-хлороформной экстракции [10]. Молекулярно-генетическое исследование полиморфных локусов rs1042713 и rs1042714 гена ADRB2, проводилось согласно методикам, описанным ранее [11].

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6.0». Для сравнения частот генотипов между различными группами использовали критерий χ<sup>2</sup> Пирсона. Различия считали статистически значимыми при p<0,05. Для анализа ассоциации генотипов с риском развития АЗ рассчитывали отношения шансов (OR) с 95%-ными доверительными интервалами (95% CI). Проводили сравнительный анализ распределения генотипов между группами детей с различной atopической патологией, а также с контрольной группой.

#### Результаты и обсуждение

Для выяснения роли полиморфных локусов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 в форми-

ровании предрасположенности к atopической патологии проводили сравнительный анализ распределений частоты встречаемости аллелей и генотипов между подгруппами пациентов с atopической БА и АтД, а также с контрольной выборкой. В таблице 1 представлены частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса Arg16Gly. Выявленные нами частоты аллелей и генотипов в контрольной группе соответствовали данным, полученным в исследованиях европейских и российских ученых [12,13].

Статистически значимые различия в распределении частоты встречаемости генотипов полиморфного локуса Arg16Gly от контрольной группы были выявлены в группе пациентов с atopической патологией в целом (p=0,01), а также в группах пациентов с БА (p=0,05) и с АтД (p=0,05). Согласно полученным данным, аллель 16Gly гена ADRB2 встречалась чаще в группах пациентов с atopической патологией по сравнению с контрольной (p=0,04), что указывает на ассоциацию данной аллели с повышенным риском развития atopической патологии (OR=1,28, 95% CI 1,01–1,63). Частота встречаемости генотипа 16ArgArg была статистически значимо в 2 раза выше в контрольной группе по сравнению со всеми группами пациентов (p=0,003 для общей группы, p=0,01 для пациентов с БА и p=0,02 для группы с АтД), что указывает на протективную значимость данного генотипа в отношении риска возникновения atopических заболеваний (OR=0,48, 95% CI 0,29–0,79). Аналогичные данные были получены и другими исследователями: установлена ассоциация аллеля 16Gly с ночной и с тяжелой формами БА у пациентов в различных популяциях [13–17].

**Таблица 1. Распределение встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 в исследуемых выборках**

Обследуемые выборки	Аллели		P	Генотипы			
	16Arg, n (%)	16Gly, n (%)		16ArgArg, n (%)	16ArgGly, n (%)	16GlyGly, n (%)	P
Контрольная группа, n=214	182 (42,5)	246 (57,5)		36 (16,8)	110 (51,4)	68 (31,8)	
Все пациенты, n=387	283 (36,6)	491 (63,4)	0,04	34 (8,8)	215 (55,5)	138 (35,7)	0,01
БА, n=276	207 (37,5)	345 (62,5)	0,11	26 (9,4)	155 (56,2)	95 (34,4)	0,05
АтД, n=111	76 (34,2)	146 (65,8)	0,04	8 (7,2)	60 (54,0)	43 (38,8)	0,05

Примечание: жирный шрифт – статистически значимые значения p (p<0,05) при сравнении частот встречаемости генотипов и аллелей в группах пациентов с контрольной выборкой

Миронова Ж.А. и соавторы обнаружили ассоциации аллельных вариантов Gly16Arg гена ADRB2 с клиническими фенотипами БА [18]. При оценке количества эозинофилов в периферической крови, как косвенного показателя активности аллергического воспаления, было выявлено, что носительство генотипа 16GlyGly гена ADRB2 у пациентов с БА повышало риск эозинофилии в периферической крови практически в 6 раз, а по мере увеличения вклада аллеля 16Arg содержание эозинофилов в крови уменьшалось. В этом же исследовании было показано, что носительство аллеля 16Gly гена ADRB2 повышало риск развития дыхательной недостаточности (ДН) II степени в 17 раз, что позволило рассматривать аллель 16Arg как протективный фактор в отношении прогрессирования ДН. Следует отметить, что различий в распределениях аллельных вариантов Gly16Arg гена ADRB2 между группами пациентов с БА и АтД в нашем исследовании не обнаружено. Таким образом, аллель 16Gly гена ADRB2 через нарушение проведения регуляторного сигнала в адренореактивной системе участвует в формировании фенотипа АЗ.

В таблице 2 представлены частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса Gln27Glu гена ADRB2 в исследуемых группах. Частота аллеля 27Gln была несколько выше частоты аллеля 27Glu (57,9% и 42,1% соответственно) и сопоставима со средними значениями по Европе (56,0%) [16]. Чаще этот аллель встречается у африканцев (82,5%), китайцев (87,8%) и японцев (92,0%) [12].

Сравнительный анализ не выявил различий в распределении аллельных вариантов и

**Таблица 2. Распределение встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса Gln27Glu гена ADRB2 в исследуемых выборках**

Обследуемые выборки	Аллели			P	Генотипы			
	27Gln, n (%)	27Glu, n (%)	P		27GlnGln, n (%)	27GlnGlu, n (%)	27GluGlu, n (%)	P
Контрольная группа, n=214	248 (57,9)	180 (42,1)		69 (32,2)	110 (51,4)	35 (16,4)		
Все пациенты с АЗ, n=387	427 (55,2)	347 (44,8)	0,35	111 (28,7)	205 (53,0)	71 (18,3)	0,62	
БА, n=276	316 (57,2)	236 (42,8)	0,83	81 (29,3)	154 (55,8)	41 (14,9)	0,63	
АтД, n=111	111 (50,0)	111 (50,0)	*0,05 **0,07	30 (27,0)	51 (46,0)	30 (27,0)	*0,07 **0,02	

Примечание: \* – различия между группами пациентов и контрольной выборкой; \*\* – различия между группой пациентов с АтД и группой с БА; жирный шрифт – статистически значимые значения p (p<0,05)

генотипов полиморфного локуса Gln27Glu гена ADRB2 между общей группой пациентов с АЗ и контрольной выборкой, а также в подгруппе пациентов с БА и контролем, что соответствует результатам других исследований [12, 18]. Однако в отношении данного локуса выявлены различия по частоте встречаемости аллелей и генотипов между подгруппой пациентов с АтД и контрольной (p=0,05 и p=0,07, соответственно). Аналогичные различия были обнаружены между подгруппами пациентов с АтД и с БА (p=0,02 и p=0,07, соответственно). При этом генотип 27GluGlu в группе пациентов с АтД гена ADRB2 выявлялся статистически значимо чаще, чем в группах сравнения (p=0,005 и p=0,02, соответственно). На основании полученных данных можно предположить, что наличие генотипа 27GluGlu гена ADRB2 у ребенка ассоциировано с повышением риска развития АтД (OR=1,89, 95% CI 1,09–3,30) и со снижением вероятности развития БА на фоне имеющегося АтД (OR=0,47, 95% CI 0,28–0,80). Как уже говорилось выше, АтД является «входными воротами» для последующего прогрессирования atopии с развитием сочетанных форм кожной и респираторной аллергии [4]. В подтверждение наших результатов можно рассматривать данные Норес и соавт., которые показали, что носители аллеля 27Glu имеют пониженный риск развития БА у детей из Шотландии [20]. В тайландской популяции также установлена ассоциация аллеля

27Glu с пониженным риском БА и количеством госпитализаций [19]. Аналогичные результаты на детской выборке были получены при проведении мета-анализа [15].

Полученные данные в нашей работе в отношении полиморфных локусов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 согласуются также с исследованиями in vitro на клеточных линиях фибробластов китайского хомячка [21]. Было показано, что при обработке β2-агонистом изопротеренолом, подавляющим синтез рецепторов, экспрессия β2-адренорецепторов, имеющих в аминокислотной последовательности глицин в положении 16, уменьшается, а наличие глутаминовой кислоты в положении 27, напротив, препятствует снижению экспрессии рецептора.

### Выводы

В результате исследования связи полиморфных локусов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 с риском возникновения atopических заболеваний (БА и АтД) показано, что генотип 27GluGlu полиморфного локуса Gln27Glu гена ADRB2 ассоциирован с повышением риска развития АтД и со снижением вероятности присоединения БА, при этом наличие генотипа 16ArgArg полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у ребенка снижает риск возникновения atopической патологии в целом. Полученные результаты могут быть использованы для прогноза возникновения и течения atopических заболеваний.

## Литература

1. Балаболкин И.И. Атопия и аллергические заболевания у детей. Педиатрия; 2003; 6: 52-57.
2. Spergel J., Paller A. Atopic dermatitis and the atopic march. J. Allergy Clin. Immunol.; 2003; 112: 128-139. DOI: 10.1016/j.jaci.2003.09.033
3. Бронхиальная астма у детей: диагностика, лечение и профилактика: науч.-практ. Программа; 2004: 46.
4. Беляева Л.М. Атопический дерматит и аллергический ринит у детей и подростков – Минск: ООО «В.И.З.А.ГРУПП»; 2006: 194.
5. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Огородова Л.М. и соавт. Генетика атопии: современное состояние. Вестник ВОГиС; 2006: 10(3): 492-503.
6. Фрейдин М.Б. Генетические основы подверженности к бронхиальной астме Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике; 2001: 130-141.
7. Portelly M., Sayers I. Genetic basis for personalized medicine in asthma. Expert Rev. Respir. Med.; 2012; 6(2): 223-236. DOI: 10.1586/ers.12.9.
8. Hizawa N. Beta-2 adrenergic receptor genetic polymorphisms and asthma. J Clin. Pharm. Ther.; 2009; 34(6): 631-643. DOI: 10.1111/j.1365-2710.2009.01066.x.
9. Hizawa N. Pharmacogenetics of  $\beta$ 2-agonists. Allergol Int.; 2011; 60(3): 239-246. Doi: 10.2332/allergolint.11-RAI-0317.
10. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA. Methods Mol Biol.; 1985; 2: 31-34. Doi: 10.1385/0-89603-064-4:31.
11. Ниязова С.С., Чакова Н.Н., Михаленко Е.П. и соавт. Роль полиморфизма генов симпатоадреналовой системы в формировании фенотипических признаков гипертрофической кардиомиопатии. Новости медико-биологических наук; 2013; 8(3): 23-28.
12. Федорова Ю.Ю., Карунас А.С., Мурзина Р.Р. и соавт. Исследование ассоциации полиморфных вариантов гена  $\beta$ 2-адренергического рецептора с бронхиальной астмой у русских. Практическая медицина; 2013; 5(74): 116-120.
13. Turner S.W., Khoo S.K., Laing I.A. et al. b2 adrenoceptor Arg16Gly polymorphism, airway responsiveness, lung function and asthma in infants and children. Clinical and Experimental Allergy; 2004; 34: 1043-1048. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2004.02001.x.
14. Lee M.Y., Cheng S.N., Chen S.J. et al. Polymorphisms of the  $\beta$ 2-adrenergic receptor correlated to nocturnal asthma and the response of terbutaline nebulizer. Pediatr Neonatol.; 2011; 52(1): 18-23. DOI: 10.1016/j.pedneo.2010.12.011
15. Thakkinstian A., McEvoy M., Minelli C. et al. Systematic review and meta-analysis of the association between  $\beta$ 2-adrenoceptor polymorphisms and asthma: a HuGE review. Am. J. Epidemiol.; 2005; 162(3): 201-211. DOI: 10.1093/aje/kwi184.
16. Santillan A.A., Camargo C.A. Jr., Ramirez-Rivera A. et al. Association between b2-adrenoceptor polymorphisms and asthma diagnosis among Mexican adults. Journal of Allergy and Clinical Immunology; 2003; 112: 1095-1100. DOI: 10.1016/j.jaci.2003.09.029.
17. Holloway J.W., Dunbar P.R., Riley G.A. et al. Association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with severe asthma. Clin. Exp. Allergy; 2000; 30(8): 1097-1103.
18. Миронова Ж.А., Трофимов В.И., Янчина Е.Д. и соавт. Ассоциация вариантов гена бета2-адренорецептора (ADRB2) и бронхиальной астмы. Проблемы клинической медицины; 2009; 1 (19): 58-61.
19. Limsuwan T., Thakkinstian A., Verasertniyom O. et al. Possible protective effects of the Glu27 allele of beta2-adrenergic receptor polymorphism in Thai asthmatic patients. Asian Pac J Allergy Immunol.; 2010; 28(2-3): 107-114.
20. Hopes E., McDougall C., Christie G. et al. Association of glutamine 27 polymorphism of  $\beta$ 2 adrenoceptor with reported childhood asthma: population based study. BMJ; 1998; 316(7132): 664.
21. Green S.A., Turki J., Innis M. et al. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adren-ergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. Biochemistry; 1994; 33(32): 9414-9419.

## Сведения об авторах

Чакова Наталья Николаевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник. г. Минск, 220072, ул. Академическая, 27; ГУ «Институт генетики и цитологии НАНБ», тел. +37517 284-21-90 (раб.) Адрес для корреспонденции: N.Chakova@igc.by  
Воловик Наталья Олеговна – младший научный сотрудник. г. Минск, 220072, ул. Академическая, 27; ГУ «Институт генетики и цитологии НАНБ»  
Ниязова Светлана Сергеевна – младший научный сотрудник. г. Минск, 220072, ул. Академическая, 27; ГУ «Институт генетики и цитологии НАНБ»  
Беляева Людмила Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии педиатрического факультета БелМАПО. 220013, г. Минск, ул. П.Бровки, 3, корп. 3; ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» Адрес E-mail: info@belmapo.by  
Микульчик Наталья Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент, педиатр, доцент кафедры педиатрии ГУО «БелМАПО». 220013, г. Минск, ул. П.Бровки, 3, корп. 3; ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования». natalliamikulchuk@tut.by  
Буза Дмитрий Викторович – кандидат медицинских наук, врач аллерголог-иммунолог высшей категории, кандидат медицинских наук, заведующий аллергологическим отделением 4-ой детской клинической больницы.

Поступила 12.09.2017 г.