

ных клеток в цитогамме назального секрета снижается и составляет $16,16 \pm 5,93\%$, что достоверно отличается от результатов обследования в 1 группе ($p < 0,05$). Среднее значение парциального веса сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов во 2 группе имеет тенденцию к снижению в сравнении с показателями в 1 группе ($p > 0,05$) и составляет $32,12 \pm 6,99\%$.

Таким образом, результаты микроскопического исследования нативной кристаллограммы назального секрета свидетельствуют о том, что кристаллограмма биосред может характеризовать метаболизм тканей дыхательных путей при воздействии холода на организм человека и иметь определенное значение для оценки эффективности предлагаемых способов коррекции адаптационного синдрома. Мы считаем, что кристаллохимическое исследование биологических жидкостей в перспективе может претендовать на роль одного из ведущих способов клинико-лабораторного исследования органов дыхания.

Выводы

1. При сканирующей электронной микроскопии в назальном секрете здоровых лиц выявляется присутствие кристаллов, которые характерны для мочевого осадка – натрия хлорида, струвитов, цистиновых кристаллов, мочевины, солей кальция и др. При воздействии холодом происходит нарастание выраженности кристаллизации, применение биофлавоноида дигидрокверцетина приводит к снижению степени кристаллизации назального секрета.

2. Выраженность кристаллизации назального сек-

рета коррелирует с парциальным весом клеток цилиндрического эпителия и сегментоядерных лейкоцитов в назальной цитогамме.

3. Кристаллографическая характеристика назального секрета может служить маркером воздействия низкой температуры окружающей среды на организм и оценочным критерием эффективности различных способов коррекции холодовой адаптации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доровских В.А., Целуйко С.С. Антиоксидантные препараты различных химических групп в регуляции стрессирующих воздействий. Благовещенск: АГМА, 2004. 268 с.

2. Морфологическая характеристика кристаллограммы жидкости бронхоальвеолярного лаважа при действии постоянного магнитного поля / Зиновьев С.В. [и др.] // Казанская наука. 2010. №10. С.358–359.

3. Татарчук Т.Ф., Сольский Я.П. Эндокринная гинекология (клинические очерки). Киев: Заповіт, 2003. 300 с.

4. Кристаллографический скрининг слезной жидкости при инволюционной центральной хориоретинальной дистрофии / Тюльганова Е.Б. [и др.] // Дальневост. мед. журн. 2004. №4. С.56–58.

5. Шатохина С.Н., Зенгер В.Г. Морфология жидких сред организма – новое направление оториноларингологии // Рос. оториноларингол. 2004. №5. С.188–191.

Поступила 04.04.2011

*Сергей Викторович Зиновьев, старший научный сотрудник,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95;
Sergey V. Zinov'ev,
95 Gorkogo Str., Blagoveschensk, 675000;
E-mail: agma@amur.ru*



УДК (616.233+616.24)-02-053.2-056:578.5

Е.А.Козлова, О.И.Морозова, Г.Н.Холодок, В.К.Козлов

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ

*Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания
Сибирского отделения РАМН – НИИ охраны материнства и детства*

РЕЗЮМЕ

С использованием метода полимеразной цепной реакции проведено исследование генетического полиморфизма Tug113His в гене микросомальной

эпоксидгидролазы у 73 детей с внебольничной пневмонией, находившихся на стационарном лечении в клинике Хабаровского филиала ДНЦ ФПД СО РАМН – НИИ ОМиД в 2010-2011 гг. Группу

контроля составили 12 здоровых детей.

Установлено, что в 63,7% случаев у детей с пневмониями определяется функционально ослабленный генотип. Среди детей с внебольничной пневмонией, осложненной синдромом бронхиальной обструкции, в 2,5 раза чаще определяется генотип Tyr/Tyr, в сравнении с течением пневмонии без бронхообструктивных нарушений. Аллель Tyr полиморфизма Tyr113His в гене микросомальной эпоксидгидролазы встречается у пациентов с бронхообструктивным синдромом с высокой долей вероятности. Полученные в ходе исследования данные подтверждают факты генетически детерминированной предрасположенности к характеру течения бронхолегочных заболеваний у детей.

Ключевые слова: генетическая предрасположенность, микросомальная эпоксидгидролаза, внебольничная пневмония, дети.

SUMMARY

E.A.Kozlova, O.I.Morozova, G.N.Kholodok,
V.K.Kozlov

GENETIC PREDISPOSITION TO DEVELOPMENT OF PULMONARY DISEASES IN CHILDREN

Using polymerase chain reaction we studied genetic polymorphism Tyr113His in the gene of microsomal epoxide hydrolase in 73 children with community-acquired pneumonia. These children were in hospital and went through inpatient care in 2010-2011. The control group consisted of 12 healthy children.

During the study it was found out that in 63.7% of the cases children with pneumonia had functionally impaired genotype. Among children with community-acquired pneumonia, complicated with bronchoobstructive syndrome, genotype Tyr/Tyr was 2.5 times more often than among children who had a pneumonia without bronchoobstructive syndrome. Tyr allele of polymorphism Tyr113His in the gene of microsomal epoxide hydrolase occurs in patients with bronchoobstructive syndrome quite often. The obtained data confirm the facts of genetically determined predisposition to the clinical course of pulmonary diseases in children.

Key words: genetic predisposition, microsomal epoxide hydrolase, community-acquired pneumonia, children.

Болезни органов дыхания занимают первое место в Российской Федерации в структуре общей заболеваемости детей и подростков, составляя почти 60%, отмечен их ежегодный рост [5]. В 2009 году в Хабаровском крае заболеваемость пневмонией составила 16,4 на 1000, а бронхиальной астмой – 14,6 на 1000 детского населения [6].

Внебольничная пневмония у детей может протекать с синдромом бронхиальной обструкции (БОС). По данным О.В.Зайцевой [3], у детей с острыми инфекционными заболеваниями нижних дыхательных путей БОС встречается в 34% случаев. Дифференциальный диагноз БОС, особенно у детей первых лет жизни, до-

статочно сложен. Это связано с большим количеством возможных этиологических факторов формирования БОС и отсутствием высокоинформативных отличительных признаков при БОС различного генеза. Поиск кандидатных генов, ответственных за развитие бронхолегочной патологии у детей с последующей разработкой лечебно-профилактических мероприятий может стать эффективной мерой снижения заболеваемости.

Среди причин, которые могут приводить к развитию заболеваний дыхательной системы, особо важное значение придается факторам окружающей среды. Устойчивость организма к последним в значительной мере зависит от состояния ферментов системы детоксикации ксенобиотиков или системы метаболизма. В зависимости от особенностей генома различные индивиды могут сохранять устойчивость, или наоборот, обнаруживать повышенную чувствительность к повреждающим агентам. Гены, кодирующие ферменты системы детоксикации (гены метаболизма), характеризуются генетическим полиморфизмом [1].

Большинство ксенобиотиков, попадая в организм, подвергаются биотрансформации, которая представляет собой трехэтапный процесс, включающий в себя активацию (фаза 1), детоксикацию (фаза 2) и выведение (фаза 3). В результате действия ферментов 1 фазы происходит активация ксенобиотиков с образованием промежуточных метаболитов (свободных радикалов), что сопряжено со значительной опасностью для клетки [4, 7].

Микросомальная эпоксидгидролаза (mEPOX) контролирует первый этап детоксикации. Различный уровень ферментативной активности mEPOX обусловлен однонуклеотидными заменами в 3 и 4 экзоне гена mEPOX, в частности мутация T337C (Tyr113His) – «медленный» аллель S. Установлено, что полиморфизм Tyr113His гена mEPOX1 приводит к снижению активности фермента микросомальной эпоксидгидролазы у гомозигот на 50% и у гетерозигот – на 25% [2]. Выявлена положительная корреляция «медленного» аллеля гена mEPOX1 с заболеваниями органов дыхания. В сочетании с курением у таких индивидов чаще, чем в среднем в популяции, развиваются респираторные заболевания, а также эмфизема легких и обструктивные пневмонии [8].

Материалы и методы исследования

С использованием метода полимеразной цепной реакции проведено исследование генетического полиморфизма Tyr113His в гене mEPOX1 у 73 детей с внебольничными пневмониями (ВП), находившихся на стационарном лечении в клинике Хабаровского филиала ДНЦ ФПД СО РАМН – НИИ ОМиД в 2010-2011 гг. Группу контроля составили 12 здоровых детей.

Применяли тест-систему для диагностики SNP производства НПФ «Литех» (Москва). Геномную ДНК выделяли с помощью реагента «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь». Визуализацию результатов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica v.6. Различия между величинами определяли с помощью z-критерия. Полученные различия считали достоверными при вероятности события не менее 95%. Проверяли соответствие распределения аллелей закону Харди-Вайнберга.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучена распространённость однонуклеотидной замены Туг на Нis в 113 положении полипептидной цепи в гене mEPOX1 у детей с ВП (табл. 1). Изучение частоты полиморфизма Туг113Нis гена mEPOX1 у детей с бронхолегочными заболеваниями проведено впервые, в доступной литературе подобных работ не обнаружено. Полученные результаты детекции частоты аллелей Туг и Нis полиморфизма Туг113Нis гена mEPOX1 в изучаемых нозологических группах соответствуют равновесному состоянию Харди-Вайнберга.

Таблица 1
Частота детекции полиморфизма Туг113Нis гена mEPOX1 (абс.)

Генотип	Больные пневмонией	Здоровые дети
Гомозигота (Туг/Туг)	28	4
Гетерозигота (Туг/Нis)	38	7
Мутантная гомозигота (Нis/Нis)	7	1

В результате проведённого исследования установлено, что у 38,4% детей с ВП определяется генотип Туг/Туг гена mEPOX1, в 52,0% случаев – гетерозигота (Туг/Нis) и в 9,6% – мутантная гомозигота (Нis/Нis). Таким образом, у детей с ВП в 61,6% случаев является функционально ослабленный генотип.

При обследовании детей контрольной группы установлено, что генотип Туг/Туг гена mEPOX1 определяется у 33,3% здоровых детей. Ослабленный генотип (гетерозигота и мутантная гомозигота) детектирован в 66,7% случаев.

Представляет интерес изучение особенностей течения пневмонии у детей в зависимости от выявленного полиморфизма. В результате проведённого анализа установлено, что в 45,2% случаев имело место развитие БОС. В таблице 2 представлены результаты детекции мутаций в гене mEPOX1 у детей с пневмониями, осложнёнными БОС, в сравнении с неосложнённым течением заболевания.

Анализ генного полиморфизма показал, что среди детей с ВП, осложненной БОС, в 2,2 раза чаще выявлялся генотип Туг/Туг гена mEPOX1, в сравнении с неосложненным течением пневмонии (p<0,01). Таким образом, в результате наших исследований установлено, что у детей на фоне ослабленного генотипа за-

болевание протекает более благоприятно, что не согласуется с данными других авторов [8]. Полученный результат можно объяснить тем, что в случаях с нормальной активностью фермента имеет место повышенная скорость образования промежуточных токсических соединений, которые запускают механизмы оксидации, избыточную генерацию гидроперекисей, в результате чего происходит более выраженное повреждение тканей легкого и бронхов [1, 7].

Проведен анализ генетического полиморфизма Туг113Нis гена mEPOX1 у детей с осложненным и неосложненным течением заболевания при впервые выявленной и повторной пневмонии. Установлено, что генотип Туг/Туг гена mEPOX1 с высокой долей вероятности (p<0,01) обнаруживается в группе детей с повторными пневмониями, осложнёнными БОС (табл. 3).

Таблица 2
Распределение частот генотипов полиморфизма Туг113Нis гена mEPOX1 у детей с пневмониями в зависимости от наличия или отсутствия БОС

Генотип	Течение пневмонии		p
	Осложненное БОС (n=33)	Неосложненное (n=40)	
Гомозигота (Туг/Туг)	18 (54,5)	10 (25,0)	<0,0119
Гетерозигота (Туг/Нis)	13 (39,4)	25 (62,5)	<0,0532
Мутантная гомозигота (Нis/Нis)	2 (6,1)	5 (12,5)	<0,3589

Примечание: здесь и далее значения в скобках – в процентах к общему количеству больных в исследуемой группе.

При изучении частоты распределения аллелей Туг и Нis у детей с пневмониями установлено, что аллель Туг с высокой долей вероятности встречается у пациентов с более тяжёлыми формами заболевания, сопровождающимися БОС (табл. 4).

На основании проведённого исследования мы можем предположить, что именно аллель Туг, обеспечивающий исходно высокий уровень фермента микросомальной эпоксидгидролазы, способствует интенсификации процессов пероксидации и более глубокому повреждению тканей лёгких и бронхов с развитием БОС.

Наличие рецидивирующего БОС в сочетании с генотипом Туг/Туг гена mEPOX1 дает нам возможность отнести этих детей к группе риска формирования бронхиальной астмы, а данный ген можно рассматривать как кандидатный для определения предрасположенности к развитию бронхиальной астмы у детей.

Таблица 3

Частота детекции полиморфизма Tug113His гена mEPOX1 у детей с осложненным и неосложненным течением заболевания при впервые выявленной и повторной пневмонии

Распределение генотипов	Неосложненное течение ВП		ВП, осложненная БОС	
	Впервые (n=20)	Повторно (n=20)	Впервые (n=21)	Повторно (n=12)
Гомозигота (Tug/Tug)	7 (35,0)	3 (15,0)	8 (38,1)	10 (83,3)
	p<0,1523		p<0,0176	
Гетерозигота (Tug/His)	9 (45,0)	16 (80,0)	11 (52,4)	2 (16,7)
	p<0,0279		p<0,0522	
Мутантная гомозигота (His/His)	4 (20,0)	1 (5,0)	2 (9,5)	-
	p<0,1597			

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что ген mEPOX1 может являться кандидатным для выявления предрасположенности к развитию бронхиальной обструкции у детей. Полученные данные подтверждают факты генетически детерминированной предрасположенности к характеру течения бронхолёгочного процесса у детей.

Таблица 4
Распределение частот аллелей полиморфизма Tug113His гена mEPOX1 у детей с пневмониями

Аллели	Течение пневмонии	
	Осложненное БОС (n=33)	Неосложненное (n=40)
Аллель Tug	49 (74,2)	45 (56,2)
Аллель His	17 (25,8)	35 (43,8)
Достоверность различий	p<0,0000	p<0,1158

Выявление предрасположенности к развитию заболевания позволит проводить комплекс лечебно-профилактических мероприятий задолго до появления клинических симптомов патологического процесса, тем самым снизить заболеваемость и частоту неблагоприятных исходов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гармонов С.Ю., Евгеньев М.И., Зыкова И.Е. Перспективные методы оценки генетически детерминированной химической чувствительности организма человека // Химическая и биологическая безопасность. 2003. №11-12. С.3–16.
2. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С.Баранова. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. 528 с.
3. Зайцева О.В. Бронхообструктивный синдром у детей. Вопросы патогенеза, диагностики и лечения: пособие для врачей. М., 2005. 48 с.
4. Активированные кислородные метаболиты в монооксигеназных реакциях / Ляхович В.В. [и др.] // Бюл. СО РАМН. 2005. №4. С.7–12.
5. Организация медицинской помощи детям с пневмонией в Российской Федерации / Мизерницкий Ю.Л. [и др.] // Рос. вестн. перинат. и педиатр. 2005. №3. С.4–8.
6. О состоянии здоровья детей в Российской Федерации. Доклад Министерства здравоохранения и социального развития РФ. М, 2009. 96 с.
7. Полиморфизм в генах человека, ассоциирующихся с биотрансформацией ксенобиотиков / Спицын В.А [и др.] // Информ. вестн. ВОГиС. 2006. №1. С.97–105.
8. Glutathione S-transferase and Microsomal Epoxide Hydrolase Gene Polymorphisms and Risk of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Slovak Population / Zidzic J. [et al.] // Croat. Med. J. 2008. №49. P.182–191.

Поступила 12.05.2011

Елена Александровна Козлова, старший научный сотрудник,
680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49;
Elena A. Kozlova,
49 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022;
E-mail: iomid@mail.ru

