

**УДК 616.248-053.2:577.21:612.39:575.113**

**DOI: 10.18522/2308-9709-2024-50-7**

### **Полиморфизм гена *EPHX1* и бронхиальная астма у детей**

Игнатиади Ю.В.<sup>1</sup>, Машкина Е.В.<sup>1</sup>, Семерник О.Е.<sup>2</sup>, Лебеденко А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, [yignatiadi@list.ru](mailto:yignatiadi@list.ru), [lenmash@mail.ru](mailto:lenmash@mail.ru)

<sup>2</sup> 344022, г. Ростов-на-Дону, переулок Нахичеванский, 29, Ростовский государственный медицинский университет, [semernick@mail.ru](mailto:semernick@mail.ru), [leb.rost@rambler.ru](mailto:leb.rost@rambler.ru)

#### *Аннотация*

К числу наиболее распространенных среди детей мультифакториальных заболеваний бронхолегочной системы относится бронхиальная астма (БА). Немаловажную роль в формировании данной патологии играют загрязняющие воздух вещества. Ксенобиотики, поступающие в организм, обезвреживаются ферментами системы детоксикации. Полиморфизм гена *EPHX1* может оказывать влияние на скорость метаболизма чужеродных веществ и, следовательно, на развитие заболевания. Целью исследования был анализ ассоциации полиморфизма *Tyr113His* (rs1051740) гена *EPHX1* с развитием БА у детей. Материалом для исследования послужили 42 образца ДНК детей, больных бронхиальной астмой, и 52 образца ДНК пациентов контрольной группы. Анализ аллелей *Tyr113His* гена *EPHX1* был проведен методом ПЦР в реальном времени. Статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов по полиморфизму *Tyr113His* гена *EPHX1* между двумя исследуемыми группами не выявлено.

Игнатиади Ю. В., Машкина Е. В., Семерник О. Е., Лебеденко А. А., Полиморфизм гена *EPHX1* и бронхиальная астма у детей // «Живые и биокосные системы». – 2024. – № 50; URL: <https://jbks.ru/archive/issue-50/article-7>; DOI: 10.18522/2308-9709-2024-50-7

*Ключевые слова:* полиморфизм генов, бронхиальная астма, детоксикация, эпоксидгидролаза

### ***EPHX1* gene polymorphism and bronchial asthma in children**

Ignatiadi Yu.V.<sup>1</sup>, Mashkina E.V.<sup>1</sup>, Semernik O.E.<sup>2</sup>, Lebedenko A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia; yignatiadi@list.ru, lenmash@mail.ru*

<sup>2</sup>*Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia; semernick@mail.ru, leb.rost@rambler.ru*

#### *Abstract*

Bronchial asthma (BA) is one of the most common multifactorial diseases of the bronchopulmonary system among children. Air pollutants play an important role in the development of this pathology. Xenobiotics entering the body are neutralized by enzymes of the detoxification system. Polymorphism of the *EPHX1* gene can affect the rate of metabolism of foreign substances and, consequently, the development of the disease. The aim of the study was to analyze the association of the *Tyr113His* polymorphism (rs1051740) of the *EPHX1* gene with the development of BA in children. The material for the study was 42 DNA samples of children with bronchial asthma and 52 DNA samples of patients in the control group. Analysis of the *Tyr113His* alleles of the *EPHX1* gene was carried out using real-time PCR. No statistically significant differences in the frequencies of alleles and genotypes for the *Tyr113His* polymorphism of the *EPHX1* gene were found between the two study groups.

*Keywords:* gene polymorphism, bronchial asthma, detoxification, epoxide hydrolase

## *Введение*

Бронхиальная астма (БА) – это гетерогенное хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, характеризующееся респираторными симптомами. Распространенность заболевания в России среди взрослого населения составляет около 7%, среди детского населения колеблется от 5% до 10% (Батожаргалова и др., 2016; Шахова и др., 2022). В период пандемии COVID-19 наблюдалось снижение уровня заболеваемости во всех группах населения, что, возможно, связано с недоучетом больных БА людей из-за схожести симптомов (Свист и др., 2024).

Загрязняющие воздух вещества способствуют развитию БА, в том числе и у детей. Поступающие в организм ксенобиотики повреждают эпителиальный барьер дыхательных путей. В свою очередь, это активирует высвобождение факторов роста фибробластов, дегрануляцию тучных клеток и эозинофилов, повышенное выделение медиаторов воспаления, вызывая ремоделирование тканей бронхов и гиперреактивность клеток. Потенциально опасными веществами, усугубляющими симптомы астмы, являются полициклические ароматические углеводороды, табачный дым, выхлопные газы транспорта и аллергены, находящиеся в воздухе (Heijink et al., 2020; Chatkin et al., 2022).

Развитие или степень тяжести БА зависит от взаимодействия генетических и внешних факторов. Вдыхаемые химические вещества быстро проникают в клетки легких и перерабатываются ферментами системы детоксикации. Данные белковые продукты осуществляют биотрансформацию чужеродных веществ в менее или более реакционноспособные соединения, которые влияют на протекание воспалительных реакций в дыхательных путях (Castell et al., 2005; Супрун, 2022).

Одним из ферментов II фазы детоксикации является микросомальная эпоксидгидролаза I (EPHX1), обеспечивающая дезактивацию эпоксидов, образующихся в ходе I фазы детоксикации. Эпоксиды гидролизуются в дигидродиолы под действием данного фермента. Но EPHX1 способен и активировать полициклические ароматические углеводороды (Gautheron et al., 2021). Таким образом, изменения в нуклеотидной последовательности гена *EPHX1* могут оказывать влияние на эффективность метаболизма токсических соединений.

Целью данной работы было исследовать ассоциацию полиморфизма *Tyr113His* (rs1051740) гена *EPHX1* с развитием бронхиальной астмы у детей.

#### *Материал и методы исследования*

В исследование включены две группы детей: больные БА и контрольная группа. Первую группу составили 42 ребенка с установленным диагнозом БА атопической формы средней степени тяжести в возрасте от 7 до 10 лет. Критерии включения: наличие подтвержденного диагноза БА (диагноз был верифицирован согласно клиническим рекомендациям «Бронхиальная астма», 2024), отсутствие сопутствующей хронической патологии со стороны других органов и систем. Критерии исключения: больные с другими хроническими и острыми заболеваниями легких. Обследование проводилось на базе педиатрического отделения клиники Ростовского государственного медицинского университета. Всем пациентам было проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование. Группу контроля составили 52 ребенка I и IIa групп здоровья соответствующего возраста и пола. В обе исследуемые группы детей были включены только лица русской национальности. Исследование проводили с соблюдением этических норм, одобренных локальным этическим комитетом Ростовского государственного

медицинского университета. От всех родителей детей было получено информированное письменное согласие на участие в исследовании.

Выделение ДНК производили термокоагуляционным методом с использованием реагента «ДНК-экспресс-кровь» (Литех, Россия). Определение аллельных вариантов *Tyr113His* (rs1051740) гена *EPHX1* осуществляли методом ПЦР в реальном времени с помощью набора реагентов «SNP-скрин» (Синтол, Россия). Молекулярно-генетическое исследование проведено на базе кафедры генетики Южного федерального университета.

Сравнение полученных частот генотипов с ожидаемыми частотами генотипов использовали для проверки соблюдения равновесия Харди-Вайнберга. Различия частот генотипов и аллелей по исследуемому SNP в двух группах детей оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

#### *Результаты исследования и их обсуждение*

Результаты анализа полиморфизма *Tyr113His* *EPHX1* представлены в таблице 1. Распределение частот генотипов в двух исследуемых группах детей соответствует равновесию Харди-Вайнберга.

*Таблица 1 – Частоты генотипов (абс. (%)) и аллелей по замене Tyr113His EPHX1 в исследуемых группах детей*

| Генотип/аллель | БА<br>n=42 | Контроль<br>n=52 | $\chi^2$ | p    | OR   | CI (95%)  |
|----------------|------------|------------------|----------|------|------|-----------|
| <i>Tyr</i>     | 0,62       | 0,7              | 1,09     | 0,3  | 0,69 | 0,38-1,29 |
| <i>His</i>     | 0,38       | 0,3              |          |      | 1,45 | 0,79-2,66 |
| <i>Tyr/Tyr</i> | 17 (40,4)  | 28 (53,8)        | 1,67     | 0,43 | 0,58 | 0,26-1,33 |
| <i>Tyr/His</i> | 18 (42,9)  | 17 (32,7)        |          |      | 1,54 | 0,67-3,58 |
| <i>His/His</i> | 7 (16,7)   | 7 (13,5)         |          |      | 1,29 | 0,41-4,01 |

Исследование замены *Tyr113His EPHX1* позволило выявить наиболее часто встречаемую аллель - *113Tyr*. В группе детей, больных бронхиальной астмой, преобладают гетерозиготы *Tyr/His*, частота данного генотипа составляет 42,9 %. В контрольной группе преобладают гомозиготы *Tyr/Tyr*, частота данного генотипа составляет 53,8 %. Гомозигот по аллели *113His* наблюдается значительно меньше в обеих исследуемых группах. Статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей между группой здоровых детей и группой детей, больных БА, не выявлено.

По данным проекта «1000 Genomes» для европеоидов частота аллели *Tyr* составляет 0,69, частота аллели *His* – 0,31 (URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1051740>), что соответствует полученным нами частотам аллелей.

Развитие БА у детей во многом зависит от воздействия факторов окружающей среды на дыхательную систему. Проникновение экзогенных веществ в дыхательные пути может привести к нарушению работы респираторного тракта, с последующим формированием бронхообструкции. Расщепление и выведение таких соединений из организма осуществляется ферментами, участвующими в процессе детоксикации. Генетические особенности человека определяют активность работы данных ферментов, что, в свою очередь, обеспечивает индивидуальную реакцию на проникновение вредных химических соединений. *EPHX1* – это один из генов детоксикационной системы, кодирующий микросомальную эпоксидгидролазу 1 (*EPHX1*). Белок участвует в метаболизме полициклических ароматических углеводородов, лекарственных препаратов, эндогенных эпоксидов (Wang et al., 2019). Изменения в работе данного фермента могут привести к нарушению детоксикации ксенобиотиков и влиять на риск развития БА.

В ходе первой фазы детоксикации с помощью ферментов системы цитохрома P450 при окислении полициклических ароматических углеводов образуются эпоксиды. Эпоксиды являются трехчленными гетероциклами с высокой реакционной способностью, которые приводят к химическим модификациям различных молекул (Guengerich, 2003).

Во второй фазе детоксикации осуществляется преобразование эпоксидов в дигидродиолы ферментом EPHX1, который относится к классу  $\alpha/\beta$ -гидролаз. В механизме реакции важную роль играет каталитическая триада белка, состоящая из аспарагиновой кислоты (Asp<sup>226</sup>), гистидина (His<sup>431</sup>) и глутаминовой кислоты (Glu<sup>404</sup>). При попадании субстрата в активный центр фермента гидроксильные группы двух тирозинов (Tyr<sup>299</sup> и Tyr<sup>374</sup>) образуют водородную связь с кислородом эпоксида для его удерживания и активации реакции. Asp<sup>226</sup> посредством нуклеофильной атаки образует комплекс фермент-субстрат. Такое промежуточное соединение гидролизуется молекулой воды, которая активируется отщеплением протона от гистидина каталитической триады. Глутаминовая кислота экранирует образовавшийся положительный заряд (Václavíková et al., 2015).

Описанный выше механизм является классическим для детоксикации эпоксидов. EPHX1 способен не только обезвреживать химические соединения, но и активировать полициклические ароматические углеводороды, способствуя развитию канцерогенеза (Decker et al., 2009). Субстратами микросомальной эпоксидгидролазы 1 могут быть и эндогенные молекулы, такие как эпоксиды жирных кислот и стероиды. Фермент участвует в эндоканнабиноидной сигнальной системе, так как преобразует 2-арахидоноилглицерол в глицерин и арахидоновую кислоту (Nithipatikom et al., 2014).

Ген *EPHX1* расположен на хромосоме 1 в локусе 1q42.12, содержит 11 экзонов. Наибольшая экспрессия наблюдается в печени, затем в надпочечниках, легких и почках. Мутация в 3 экзоне локуса rs1051740 337T>C приводит к замене тирозина на гистидин в 113 положении белка (URL:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2052>), что снижает активность фермента примерно на 40% (Hassett et al., 1994).

Данные литературы об ассоциации полиморфизма *Tyr113His* *EPHX1* с развитием бронхиальной астмы и других бронхолегочных заболеваний противоречивы. В ряде исследований установлено, что дети с генотипом *His/His* имеют пониженный риск развития заболевания с поздним началом (Salam et al., 2007). Аллель *113Tyr* связана с осложненной формой пневмонии, характеризующейся бронхолегочной обструкцией (Козлова и др., 2011). Изучение влияния полициклических углеводов и эпоксидгидролазы на развитие астмы установило, что человек с генотипами *Tyr/Tyr* и *Tyr/His* более восприимчив к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды (Wang et al., 2019).

В других исследованиях показано, что наличие генотипов *Tyr/His*, *His/His* повышает риск развития астмы с ранним началом (Tung et al., 2010). Носительство данных генотипов также связано с тяжестью течения профессиональной бронхиальной астмы (Помыканова, 2015). Гомозиготы по аллели *113His* и гетерозиготы *Tyr/His* имеют повышенный риск развития БА у детей. Возможно, это связано с низкой активностью фермента, в результате чего происходит медленная инактивация ксенобиотиков (Литвинец, 2020). Исследование влияния гена *EPHX1* на развитие хронической обструктивной болезни легких установило, что аллель *113His* ассоциирована с повышенным риском развития заболевания (Акпарова и др., 2017; Yang et al., 2023).

Анализ данных литературы об ассоциации гаплотипов гена *EPHX1* с развитием БА показал, что гаплотип *113Tyr-139Arg* повышал риск развития заболевания с поздним началом у детей. Наличие данного гаплотипа характеризуется высокой активностью *EPHX1*, что приводит к повреждению дыхательных путей из-за накопления активных форм кислорода и повышенного окислительного стресса. Наличие гаплотипа *113His-139Arg* повышает риск развития астмы с ранним началом (Tung et al., 2010). Исследование Salam с коллегами выявило, что высокая ферментативная активность (гаплотип *113Tyr-139Arg*), наличие аллели *105Val* гена *GSTP1* и проживание в радиусе 75 метров от проезжей части повышало риск развития БА у детей (Salam et al., 2007).

В нашем исследовании не выявлено ассоциации полиморфизма *Tyr113His EPHX1* с риском развития бронхиальной астмы. Однако анализ данных литературы указывает на необходимость проведения масштабных исследований на большой выборке с учетом пола, возраста и природы воздействующего на организм аллергена.

### *Заключение*

Таким образом, анализ полиморфизма *Tyr113His EPHX1* не выявил статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей между группой больных БА детей и группой здоровых детей.

### *Литература / References*

1. Акпарова А., Абдрахманова Б., Банерджи Н., Берсимбаев Р. Полиморфизм *EPHX1 Y113H* связан с повышенным риском хронической обструктивной болезни легких у населения Казахстана // Исследование

мутаций/Генетическая токсикология и экологический мутагенез. – 2017. – № 816. – С. 1-6.

2. Батожаргалова Б.Ц., Мизерницкий Ю.Л., Подольная М.А. Метаанализ распространенности астмоподобных симптомов и бронхиальной астмы в России (по результатам программы ISAAC) // Пульмонология. – 2016. – №4. – С. 59-69.

3. Козлова Е.А., Морозова О.И., Холодок Г.Н., Козлов В.К. Генетическая предрасположенность к развитию бронхолегочной патологии у детей //Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – №. 40. – С. 25-28.

4. Литвинец Л. Полиморфизм гена детоксикации ксенобиотиками у детей с бронхиальной астмой // Wiad Lek. – 2017. – № 70. – С. 558-560.

5. Помыканова Ю.С. Полиморфизм гена микросомальной эпоксидгидролазы 1 при раннем развитии профессиональной бронхиальной астмы //Медицина труда и промышленная экология. – 2015. – №. 9. – С. 116-117.

6. Свист П.Г., Торчинский Н.В., Авдеев С.Н., Брико Н.И. Клинико-эпидемиологическая характеристика заболеваемости бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких в России в период до и во время эпидемии COVID-19 //Russian Journal of Preventive Medicine. – 2024. – Т. 27. – №. 6.

7. Супрун Е.Н. Прогнозирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы у детей на основе полиморфизмов генов сигнальных молекул иммунной системы и генов детоксикации // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2022. – № 86. – С. 56-61.

8. Шахова Н.В., Камалтынова Е.М., Кашинская Т.С. Распространенность бронхиальной астмы и аллергических заболеваний среди детей // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2022. – №2. – С. 5-12.

9. Castell J.V., Donato M.T., Gómez-Lechón M.J. Metabolism and bioactivation of toxicants in the lung. The in vitro cellular approach //Experimental and Toxicologic Pathology. – 2005. – V. 57. – P. 189-204.

10. Chatkin J., Correa L., Santos U. External environmental pollution as a risk factor for asthma //Clinical reviews in allergy & immunology. – 2022. – V. 62. – P. 72-89.

11. Decker M., Arand M., Cronin A. Mammalian epoxide hydrolases in xenobiotic metabolism and signalling //Archives of toxicology. – 2009. – V. 83. – P. 297-318.

12. Gautheron J., Jéru I. The multifaceted role of epoxide hydrolases in human health and disease //International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – P. 13.

13. Guengerich F.P. Cytochrome P450 oxidations in the generation of reactive electrophiles: epoxidation and related reactions //Archives of biochemistry and biophysics. – 2003. – V. 409. – P. 59-71.

14. Hassett C., Aicher L., Sidhu J.S., Omiecinski C. Human microsomal epoxide hydrolase: genetic polymorphism and functional expression in vitro // Hum Mol Genet. – 1994. – V. 3, № 3. – P. 421-428.

15. Heijink I.H., Kuchibhotla V.N.S., Roffel M.P., Maes T., Knight D.A., Sayers I., Nawijn M.C. Epithelial cell dysfunction, a major driver of asthma development //Allergy. – 2020. – V. 75, №. 8. – P. 1902-1917.

16. Nithipatikom K., Endsley M.P., Pfeiffer A.W., Falck J.R., Campbell W.B. A novel activity of microsomal epoxide hydrolase: metabolism of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol // *J Lipid Res.* – 2014. – № 10. – P.2093-2102.

17. Salam M.T., Avol E., Pi-Chu K. Lin Microsomal epoxide hydrolase, glutathione S-transferase P1, traffic and childhood asthma A // *Thorax.* – 2007. – V. 12, № 62. – P. 1050-1057.

18. Tung K.-Y., Tsai C.H., Lee Y.L. Microsomal epoxide hydroxylase genotypes/diplotypes, traffic air pollution, and childhood asthma // *Chest.* – 2011. – V. 4, № 139. – P. 839-848.

19. Václavíková R., Hughes D.J., Souček P. Microsomal Epoxide Hydrolase 1 (EPHX1): Gene, Structure, Function, and Role in Human Disease // *Gene.* – 2015. – № 1. – P. 1-15.

20. Wang Q., Xu X., Cong X. Interactions between polycyclic aromatic hydrocarbons and epoxide hydrolase 1 play roles in asthma // *Environmental Geochemistry and Health.* – 2019. – V. 8, № 41. – P. 191-210.

21. Yang Q., Huang W., Yin D. EPHX1 and GSTP1 polymorphisms are associated with COPD risk: a systematic review and meta-analysis // *Frontiers in Genetics.* – 2023. – № 14. – P. 1-18.

Статья поступила в редакцию 12 ноября 2024 г.

Поступила после доработки 17 ноября 2024 г.

Принята к печати 13 декабря 2024 г.

Received 12, November, 2024

Revised 17, November, 2024

Accepted 13, December, 2024