

## IDENTIFIKACIJA NEKATERIH KANDIDATNIH GENOV ZA ASTMO TER POVEZAVA TEH GENOV S FENOTIPOM ASTME IN ODGOVOROM NA ZDRAVLJENJE PRI OTROCIH Z ASTMO

V. Berce<sup>1</sup>, U. Potočnik<sup>2</sup>

(1) Otroški oddelek, Splošna bolnišnica Murska Sobota

(2) Center za humano genetiko in farmakogenomiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

### IZHODIŠČA

Astma je najpogostejša resna kronična bolezen v otroštvu, ki ima v razvitih državah prevalenco približno 10 %. Astma je kompleksna poligenska bolezen z nekaj fenotipi, ki se ločijo predvsem glede na sprožilce piskanja in naravni potek bolezni. Patogenezo astme zaenkrat razlagamo kot posledico interakcije med številnimi geni in vplivi okolja. Geni CCR5, IL4, IL4RA, NOD2/CARD15, MUC7, TNF, TGFB1, SLC22A4 in IL23R so vpleteni tako v patogenezo alergijskega ali avtoimunega vnetja kot tudi v imunski odziv na okužbe dihal in bi zato lahko bili povezani tudi samo z določenim fenotipom astme. Tudi v odzivu na protiastmatsko zdravljenje z inhalacijskimi glukokortikoidi so med posamezniki velike razlike, ki imajo predvsem genetsko ozadje. Doslej so le za nekaj genov dokazali vpliv na protiastmatski učinek glukokortikoidov. Ta temelji tudi na inhibiciji predstavitve antigena in vplivu na ekspresijo CTLA4, molekule, ki je sicer pomemben regulator v procesu predstavitve antigena in imunskega odziva na alergene.

### NAMEN

Z raziskavo smo želeli prepoznati nove kandidatne gene za astmo kot enovito obolenje in gene oziroma polimorfizme, povezane samo z določenim fenotipom astme. Namen raziskave je tudi razpoznavati tistih genov, ki so povezani z učinkom inhalacijskih glukokortikoidov pri zdravljenju astme oziroma posameznih fenotipov astme.

### METODE IN PREISKOVANCI

V raziskavo smo vključili 111 slovenskih otrok v starosti od 5 do 18 let z blago ali zmerno vztrajajočo obliko astme, od tega 81 atopikov in 30 bolnikov z neatopijsko astmo. Kot kontrolno skupino smo uporabili genotip 89 zdravih otrok. Pri bolnikih z astmo smo opravili alergološke teste, spirometrijo, bronhoprovokacijski test z metaholinom, merjenje dušikovega oksida v izdihanem zraku in genotipizacijo za polimorfizme CCR5-delta32, IL4RA Q551R, IL4 C-33T, NOD2 R702W, CTLA4 CT60, MUC7 – VNTR, TNF C-1031T, TGFB1 C-509T, SLC22A4 C1672T in IL23R rs7517847. V periferni krvi smo določili še število eozinofilcev in vrednost celokupnih IgE. Pri 26 bolnikih z astmo smo ugotavljali tudi izražanje gena CTLA4 pred protiastmatskem zdravljenju in po njem, izražanje CTLA4 pa smo primerjali tudi s 44 zdravimi kontrolami. Statistično analizo smo opravili s programom SPSS.

### REZULTATI

Pri bolnikih z neatopijsko astmo je bila frekvenca mutacije CCR5-delta32 1,7 %, kar je značilno manj kot 10,1 % pri kontrolni skupini ( $p=0,03$ ), frekvenca alela IL4RA Arg551 pa je znašala 6,7 %, kar je tudi značilno manj kot 21,9 % pri kontrolni skupini ( $p<0,01$ ). Povezave genotipa z atopijsko astmo pa nismo našli za nobenega od preučevanih genov. Astmatiki, nosilci alela IL4RA Arg551, so imeli težjo astmo s povprečnim FEV1 77,2 % predvidenega, kar je značilno manj kot 82,5 % pri astmatikih z alelom IL4RA Gln551 ( $p=0,02$ ). Astmatiki z alelom

IL4RA Arg551 so imeli povprečno vrednost dušikovega oksida v izdihanem zraku 55,0 ppb, kar je značilno več kot 39,8 ppb pri nosilcih alela IL4RA Gln551 ( $p=0,04$ ). Pri bolnikih z atopijsko astmo in alelom A polimorfizma CTLA4 CT60 smo ugotovili značilno boljši odgovor na protiastmatsko zdravljenje z inhalacijskimi glukokortikoidi s povprečnim porastom FEV1 13,0 % v primerjavi z 7,1 % pri nosilcih alela G ( $p=0,02$ ). Mediana relativne ekspresije fCTLA4 izoforme je bila pri bolnikih z atopijsko astmo 0,39, kar je značilno manj kot 1,73 pri kontrolah ( $p=0,009$ ), po zdravljenju z inhalacijskimi glukokortikoidi pa se je relativna ekspresija fCTLA4 povečala na 1,28 ( $p=0,01$ ).

bodo verjetno odražale tudi v bolj diferenciranem diagnostičnem in terapevtskem pristopu, ki bo ukrojen po meri posameznega bolnika.

## RAZPRAVLJANJE IN ZAKLJUČEK

Alela IL4RA Arg551 in CCR5-delta32 varujeta pred neatopijsko astmo. Oba alela verjetno modificirata dovzetnost in/ali imunski odziv na okužbe dihal z respiratornim sincicijskim virusom, rinovirusi in mikoplazmo. Alel CCR-delta32 nagne ravnovesje Th1/Th2 v prid imunskega odziva Th2 in hkrati oslabi imunski odziv Th1, ki je verjetno pomembnejši v patogenezi neatopijske astme. Rezultati ekspresijske študije nakazujejo pomembno vlogo CTLA4 v patogenezi atopijske astme. Izoforma fCTLA4 verjetno zavira s Th2 posredovano vnetje pri astmi, porast ekspresije te izoforme po zdravljenju z inhalacijskimi glukokortikoidi pa je pomemben element njihovega protiastmatičnega učinka. Morda je prav polimorfizem CTLA4 CT60 funkcionalno povezan z vezavnimi mesti za transkripcijske dejavnike, ki so vpleteni v signalno transdukcijo glukokortikoidov in lahko zato modificira njihov vpliv na ekspresijo CTLA4.

Rezultati naše študije omogočajo nova spoznanja o patogenezi astme. Ugotovitve nakazujejo razlike v patogenezi fenotipov astme in prispevajo k razumevanju astme kot kompleksne in heterogene bolezni tudi na genetski ravni. V prihodnosti bodo asociacijske študije pri astmi poizkušale prepoznati kandidatne gene, povezane samo z določenim fenotipom astme. Pojasnitev mehanizmov, s katerimi so posamezni kandidatni geni udeleženi v patogenezi astme in odzivu na protiastmatsko zdravljenje pa zahteva tudi dodatne študije na molekularni ravni. Ugotovljene razlike v patogenezi astme med fenotipi se