

УДК 575.113:616.248–053.2:616–001.28

Є. І. Степанова✉, І. Є. Колпаков, В. Ю. Вдовенко, В. М. Зигало, С. М. Альохіна,
В. Г. Кондрашова., О. С. Леонович

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Ілленка, 53, Київ, 04050, Україна

РОЛЬ СПАДКОВОЇ СХИЛЬНОСТІ, ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗ (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*) ТА ДЕЯКИХ НЕСПРИЯТЛИВИХ ЧИННИКІВ У РОЗВИТКУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ – МЕШКАНЦІВ РАДІОАКТИВНО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЙ

Мета роботи: визначити вплив спадкової схильності, поліморфізму генів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* і чинників навколишнього середовища на розвиток бронхіальної астми у дітей – мешканців радіоактивно забруднених територій.

Матеріали та методи. Обстежені діти шкільного віку – мешканці радіоактивно забруднених територій, хворі на бронхіальну астму, та ті, які не мали клінічних ознак патології органів дихання. На підставі вивчення анамнестичних даних і медичної документації визначали генетичні, медико-біологічні та соціальні фактори ризику. Методом комп'ютерної спірометрії оцінювали стан вентиляційної спроможності легенів. Молекулярно-генетичні дослідження проводили з використанням методів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) для подальшого аналізу.

Результати. Молекулярно-генетичні дослідження розподілу генотипів і частот поліморфних варіантів генів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* проведені у дітей, які мешкають за умов тривалого надходження до організму ^{137}Cs харчовими ланцюжками. Встановлено, що у дітей, хворих на бронхіальну астму, спостерігається тенденція до підвищення частоти делеційного варіанта генів *GSTT1* і *GSTM1* в порівнянні з дітьми, які не мали патології бронхів та легенів. Дослідження розподілу поліморфних варіантів *313AG* гена *GSTP1* виявило у дітей, хворих на бронхіальну астму, достовірне підвищення частоти *AG*-генотипу, порівняно з показниками референтної групи. Визначені несприятливі чинники, що підвищують ризик розвитку бронхообструктивних порушень та ймовірність їх реалізації у вигляді бронхіальної астми у дітей – мешканців радіоактивно забруднених територій. Встановлено, що серед них провідну роль відіграє спадкова схильність до цього захворювання. З боку дитини такими негативними чинниками виявилися несприятливі умови внутрішньоутробного розвитку, наявність ознак ексудативно-катарального діатезу, проявів алергії та частих респіраторних захворювань з перших місяців життя. Встановлено, що ризик розвитку бронхіальної астми суттєво зростає у дітей з делеційними генотипами генів *GSTT1* і *GSTM1*; визначено підвищення ризику розвитку бронхіальної астми у дітей при поєднанні *313AG* поліморфізму гена *GSTP1* з делеційним поліморфізмом гена *GSTT1* або *GSTM1*.

Висновок. Одним із провідних механізмів, завдяки якому відбувається реалізація спадкової схильності в бронхіальну астму у дітей, які мешкають за умов постійного надходження до організму радіонуклідів з тривалим періодом напіврозпаду, є поліморфізм певних генів глутатіон-S-трансфери, а саме, делеційний поліморфізм генів *GSTT1*, *GSTM1* і *313AG* та поліморфізм гена *GSTP1*.

Ключові слова: діти, радіоактивно забруднені території, чинники ризику, бронхіальна астма, поліморфізм генів глутатіон-S-трансфери.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2021. Вип. 26. С. 449–463. doi: 10.33145/2304-8336-2021-26-449-463

✉ Степанова Євгенія Іванівна, e-mail: profstepanova@i.ua

Ye. I. Stepanova✉, I. Ye. Kolpakov, V. Yu. Vdovenko, V. M. Zigalo, S. M. Al'okhina,
V. H. Kondrashova, O. S. Leonovych

State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yurii Illienka Str., Kyiv, 04050, Ukraine

ROLE OF GENETIC PREDISPOSITION, GENE POLYMORPHISM OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*) AND SOME ADVERSE FACTORS IN DEVELOPMENT OF BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN – RESIDENTS OF RADIOACTIVELY CONTAMINATED AREAS

Objective: to determine the influence of hereditary predisposition, polymorphism of *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* genes and environmental factors on the development of bronchial asthma in children – residents of radioactively contaminated areas.

Materials and methods. School-age children-residents of radioactively contaminated areas with bronchial asthma, and those without clinical signs of respiratory pathology were examined. Genetic, medical, biological and social risk factors were determined based on the study of anamnestic data and medical records. Ventilation lung capacity was assessed by the method of computer spirometry. Molecular genetic studies were carried out using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) for further analysis.

Results. Molecular genetic studies of the distribution of genotypes and frequencies of polymorphic variants of the genes *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* were performed in children living under long-term intake of ¹³⁷Cs by food chains. It was found that in children with BA the tendency to frequency of the deletion variant of the *GSTT1* and *GSTM1* genes in comparison with children without bronchial and pulmonary pathology was increased. The study of distributing the *GSTP1* A313G gene polymorphic variants revealed in children with BA a significant increase in the frequency of AG-genotype, compared with the data of reference group. Adverse factors that increase the risk of developing bronchoobstructive disorders and the probability of their implementation in the form of bronchial asthma in children - residents of RCA have been identified. It is established that among them the leading role is played by hereditary predisposition to this disease. On the part of the child, such negative factors were unfavorable conditions of fetal development, the presence of signs of exudative-catarrhal diathesis, manifestations of allergies and frequent respiratory diseases from the first months of life. It was found that the risk of developing BA was significantly increased in children with the *GSTT1* and *GSTM1* gene deletion genotypes; an increased risk of developing BA in children with a combination of the *GSTP1* A313G gene polymorphism with deletion polymorphism of the *GSTT1* or *GSTM1* gene was determined.

Conclusion. One of the leading mechanisms, due to which there is a realization of hereditary predisposition to bronchial asthma in children living under constant intake of radionuclides with a long half-life, is the polymorphism of certain glutathione-S-transferase genes, namely, *GSTT1*, *GSTM1* and A313G gene deletion polymorphism and *GSTP1* gene polymorphism.

Key words: children, radioactively contaminated areas, risk factors, bronchial asthma, glutathione-S-transferase gene polymorphism.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2021;26:449-463. doi: 10.33145/2304-8336-2021-26-449-463

ВСТУП

Роботами ряду дослідників доведено, що комплекс негативних чинників Чорнобильської катастрофи має значний вплив на функціональний стан системи дихання, обумовлюючи високу частоту бронхіальної гіперреактивності і підвищуючи ризик розвитку хронічної бронхолегеневої патології у дітей – меш-

INTRODUCTION

A number of researchers have shown that the complex of negative factors of the Chernobyl disaster has a significant impact on the functional state of the respiratory system, causing a high incidence of bronchial hyperreactivity and increasing the risk for development of chronic bronchopulmonary

✉ Yevgenia I. Stepanova, e-mail: profstepanova@i.ua

канців радіоактивно забруднених територій (РЗТ) [1–3].

Натепер встановлено, що етіологія і патогенез бронхообструктивних захворювань визначаються складною взаємодією генетичних особливостей і несприятливих чинників навколишнього середовища. Сучасні дослідження все більше зосереджуються на вивченні молекулярних і генетичних основ спадкової схильності та полягають у визначенні ролі певних генів і ферментів, кодованих ними, в патогенезі бронхообструктивних захворювань [4, 5].

Реакція організму кожної конкретної людини на вплив навколишнього середовища суттєво залежить від генетично детермінованих особливостей функціонування ферментних систем, серед яких значне місце належить ензимам II фази детоксикації ксенобіотиків. Так, глутатіон-S-трансферази (GSTs) – велика група ферментів, які безпосередньо залучені до другої фази біотрансформації, характеризуються широкою субстратною специфічністю і здатністю до метаболізму багатьох речовин [4]. Встановлено широкий ізоморфний спектр GST, який визначається поліморфізмом генів, що їх кодують. Відмінності в структурі ізоферментів призводять до різної здатності метаболізувати ксенобіотики та продукти оксидативного стресу. Це обумовлює різний ступінь схильності кожної окремої особи до виникнення мультифакторіальних захворювань, зокрема патології органів дихання [6].

Відомо, що GST людини кодується великою мультигенною родиною, яка охоплює понад 20 генів [7], а функція багатьох з них все ще потребує подальшого вивчення.

Порівняно добре дослідженими є цитоплазматичні ізоформи генів *GSTT1*, *GSTM1* та *GSTP1*, які беруть участь у детоксикації багатьох токсинів, продуктів оксидативного стресу, канцерогенів, лікарських препаратів та ін. [8]. Ферменти-ізомери, що кодується генами сімейства глутатіон-S-трансфераз *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, є важливою ланкою антиоксидантного захисту на клітинному рівні.

Поліморфізм генів, що кодують ферменти сімейства глутатіон-S-трансфераз, на тлі оксидативного стресу може бути суттєвою ланкою патогенезу функціональних порушень і патологічних процесів у бронхолегеневій системі, котрі спостерігаються у дітей, які мешкають за умов тривалого впливу малих доз іонізуючого випромінювання [8, 9].

На сучасному етапі значна увага приділяється вивченню механізмів розвитку та прогресування мультифакторіальних захворювань, одним із яких є

pathology in children – residents of radioactively contaminated areas [1–3].

It is now established that the etiology and pathogenesis of bronchoobstructive diseases are determined by the complex interaction of genetic features and adverse environmental factors. Current researches are increasingly focused on the study of molecular and genetic bases of hereditary predisposition and are to determine the role of certain genes and enzymes encoded by them in the pathogenesis of bronchoobstructive diseases [4, 5].

The reaction of each concrete individual to the environment influence significantly depends on the genetically determined features of the functional enzyme systems, among which a significant place belongs to the enzymes in the phase II of xenobiotic detoxification. Thus, glutathione-S-transferases (GSTs) are a large group of enzymes that are directly involved in the second phase of biotransformation, characterized by broad substrate specificity and the ability to metabolize many substances [4]. A wide isomorphic spectrum of GSTs which is determined by the polymorphism of the genes encoding them has been established. Differences in the structure of isoenzymes lead to different ability to metabolize xenobiotics and oxidative stress products. This causes a different degree of susceptibility of each individual to the occurrence of multifactorial diseases, including respiratory pathology [6].

It is known that human GST is encoded by a large multigenic family which covers more than 20 genes [7], and the function of many of them still needs further study.

The cytoplasmic isoforms of *GSTT1*, *GSTM1* and *GSTP1* genes, which are involved in the detoxification of many toxins, oxidative stress products, carcinogens, drugs, etc., are relatively well studied [8]. Isoenzymes encoded by genes of the glutathione-S-transferase family (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*) are an important part of antioxidant protection at the cellular level.

Polymorphism of genes encoding enzymes of the glutathione-S-transferase family, against the background of oxidative stress, can be a significant part in the pathogenesis of functional disorders and pathological processes in the bronchopulmonary system, which are observed in children living under long-term exposure to low doses of ionizing radiation [8, 9].

At the present stage, much attention is paid to the study of the mechanisms of development and progression of multifactorial diseases, one of which is

бронхіальна астма (БА). На відміну від моногенних хвороб, для виникнення яких достатньо наявності мутації в структурному гені, БА належить до найбільш численної групи мультифакторіальних захворювань, в появі яких задіяні як генетичні, так і екзогенні фактори [10–12]. Розглядається роль в генеративності до БА генів глутатіонтрансферази – *GSTM1* і *GSTT1*. Поліморфізм цих генів обумовлений наявністю двох алелів: функціонального і неактивного («нульового») [13–15]. Доведено, що у хворих із неконтрольованою БА достовірно частіше зустрічались генотипи del/del по обох генах глутатіон-S-трансферази (*GSTM1* і *GSTT1*).

Роботами ряду авторів доведено, що фактори ризику (ФР), як каталізатор, прискорюють виникнення і перебіг патологічного процесу. При цьому в першу чергу змінюються адаптивні реакції та виникають функціональні порушення з виходом на більш напружений рівень життєдіяльності. В подальшому спостерігається виснаження компенсаторних механізмів з маніфестацією патологічного стану. Проте доведено, що мультифакторіальні захворювання, до яких належить БА, виникають при взаємодії генетичних чинників [16, 17].

Фактори ризику дезадаптації, захворюваності, інвалідності та смертності вивчаються не одне десятиріччя. Діапазон їхнього впливу на дітей величезний. ФР не є безпосередньою причиною захворювання, проте вони підвищують ймовірність виникнення розладів у функціонуванні різних органів та систем з подальшою реалізацією у вигляді патологічних станів.

У медичному розумінні ФР – це сполучення умов, агентів, певний фізіологічний стан, спадковість, умови життя та ін., що істотно збільшують ризик розвитку тих чи інших хвороб, їх рецидування та прогресування. Між факторами ризику та причинами виникнення захворювань є багато спільного, проте існують і суттєві розбіжності. Вони обумовлені тим, що причини мають здебільшого абсолютний характер, і як правило, обов'язково призводять до захворювання. ФР мають ймовірнісний характер, тобто можуть призвести до захворювання, а можуть і ні. Одне сполучення факторів ризику формує більш загрозливу ситуацію, інше – менш. Зважаючи на це, особливо важливо виявити несприятливе співвідношення факторів ризику і визначити заходи спрямовані на усунення або мінімізацію їхньої негативної дії для збереження здоров'я дітей [6, 18].

bronchial asthma. In contrast to monogenic diseases, for the occurrence of which the presence of mutations in the structural gene is sufficient, bronchial asthma (BA) belongs to the most numerous group of multifactorial diseases, in the occurrence of which both genetic and exogenous factors are involved [10–12]. The role in the predisposition to glutathione transferase genes – *GSTM1* and *GSTT1* – in the predisposition to BA is considered. The polymorphism of these genes is due to the presence of two alleles: functionally active and inactive («zero») [13–15]. It has been proven that del/del genotypes for both glutathione-S-transferase genes (*GSTM1* and *GSTT1*) were significantly more common in patients with uncontrolled BA.

In the work of several authors was proved that risk factors (RF), such as a catalyst, accelerate the occurrence and course of the pathological process. At the same time, first of all, adaptive reactions change and functional disorders appear, reaching a more intense level of vital activity. In the future there is a depletion of compensatory mechanisms with the manifestation of a pathological condition. However, it has been proven that multifactorial diseases, to which BA belongs, arise from the interaction of genetic factors [16, 17].

Risk factors for maladaptation, morbidity, disability and mortality have been studied for decades. The range of their impact on children is huge. RFs are not a direct cause of the disease, but they increase the probability of disorders in the functioning of various organs and systems with subsequent implementation in the form of pathological conditions.

In the medical sense, RF is a combination of conditions, agents, a certain physiological condition, heredity, living conditions, etc., which significantly increase the risk of certain disease development, their recurrence and progression. Between risk factors and causes of disease occurrence have much in common, but there are also significant differences. They are due to the fact that the causes are mostly absolute, and usually necessarily lead to the disease. RFs are probabilistic in nature, i.e. may or may not lead to disease. One combination of risk factors creates a more threatening situation, the other – less. In view of this, it is especially important to identify the unfavorable ratio of risk factors and identify measures directed to eliminate or minimize their negative effects to preserve the health of children [6, 18].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Визначити вплив спадкової схильності, поліморфізму генів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* і чинників навколишнього середовища на розвиток бронхіальної астми у дітей – мешканців радіоактивно забруднених територій

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 67 дітей шкільного віку (від 10 до 17 років), які перебували на стаціонарному лікуванні в клініці ННЦРМ. Всі обстежені діти постійно (з моменту народження) проживали на РЗТ Народицького, Овруцького, Олевського та Коростенського районів Житомирської області зі щільністю забруднення ґрунтів ^{137}Cs від 10 до 555 кБк/м². Рівень ^{137}Cs в тілі дітей коливався від 74 Бк до 8806 Бк.

З них I групу склали 48 дітей без клінічних ознак патології органів дихання; до II групи увійшло 19 дітей, хворих на БА.

Робота базувалася на комплексному підході, що включав клінічні, інструментальні та лабораторні дослідження.

Дослідження проводили згідно з принципами мінімального ризику, використовували дані, отримані для встановлення діагнозу та лікування дитини. Для проведення досліджень отримували інформовану згоду батьків і дитини. Дизайн та обсяг дослідження були затверджені КМЕ ННЦРМ (Протокол засідання № 21 від 17.10.2014р.).

На підставі вивчення анамнестичних даних та медичної документації визначалися генетичні, медико-біологічні та соціальні фактори ризику.

Методом комп'ютерної спірометрії з використанням фармакологічної інгаляційної проби на наявність бронхіальної гіперреактивності оцінювали стан вентиляційної спроможності легенів [19].

Загальну геномну ДНК виділяли з крові згідно зі стандартним протоколом з використанням протеїнази К та додецилсульфату натрію як детергента. Виявлення делецій у генах *GSTT1* та *GSTM1* здійснювали методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Аналіз результатів ПЛР проводили методом електрофорезу у 2 % агарозному гелі. Очікувані довжини фрагментів ДНК (431 нп для *GSTT1* та 120 нп для *GSTM1*) розраховували за допомогою пакету програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR з використанням послідовностей генів *GSTT1* та *GSTM1*, які наявні у базі даних Genbank. Гомозиготні форми з делецією обох копій генів *GSTT1* та

OBJECTIVE

To determine the influence of hereditary predisposition, polymorphism of *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* genes and environmental factors on the development of bronchial asthma in children-residents of radioactively contaminated areas.

MATERIALS AND METHODS

There were examined 67 school-age children (aged from 10 to 17 years) who were hospitalized at the NRCRM clinic for inpatient treatment. All the surveyed children permanently (from the moment of birth) lived in radioactively contaminated areas (RCA) of the Narodychi, Ovruch, Olevsk and Korosten districts of Zhytomyr region with a density of ^{137}Cs contamination of soil from 10 to 555 kBq/m². The level of ^{137}Cs in the body of children ranged from 74 Bq to 8806 Bq.

Of these, group I consisted of 48 children without clinical signs of respiratory pathology; group II included 19 children with BA.

The work was based on a complex approach that included clinical, instrumental and laboratory studies.

The studies were performed according to the principles of minimal risk, using data obtained to diagnose and treat the child. Parents and children received informed consent for the study. The design and scope of the study were approved by the CME NRCRM (Protocol № 21 dated 17.10.2014).

Genetic, medical, biological and social risk factors were determined based on the study of anamnestic data and medical documentation.

The state of ventilation lung capacity was assessed by the method of computer spirometry using a pharmacological inhalation test for the presence of bronchial hyperreactivity [19].

Total genomic DNA was isolated from blood according to a standard protocol using proteinase K and sodium dodecyl sulfate as detergent. Detection of deletions in the *GSTT1* and *GSTM1* genes was performed by multiplex polymerase chain reaction (MPCR). PCR results were analyzed by the method of electrophoresis in 2 % agarose gel. The expected DNA fragment lengths (431 bp for *GSTT1* and 120 bp for *GSTM1*) were calculated with the DNASTAR computer data processing software package using the *GSTT1* and *GSTM1* gene sequences available in the Genbank database. Homozygous forms with deletion of both copies of the *GSTT1* and *GSTM1* genes were iden-

GSTM1 ідентифікували за відсутністю відповідного фрагменту на електрофореграмі. Такі генотипи позначали, як T1del та M1del. Відповідно, наявність цих фрагментів на електрофореграмах свідчила про гомо- або гетерозиготність по нормальній копії гена. Генотип таких пацієнтів позначали, як T1+ та M1+.

Геномну ДНК для молекулярно-генетичного дослідження *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* виділяли з периферійної крові за допомогою комерційної тест-системи «innuPREP Blood DNA Mini Kit» («Analytik Jena», Німеччина) з використанням центрифужних фільтрів. Для визначення поліморфних варіантів гена *GSTP1* (*A313G*) rs1695 використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами із застосуванням методу ПЛР та наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Досліджувану ділянку гена ампліфікували за допомогою специфічних праймерів («Metabion», Німеччина) для *GSTP1* (5'-GTAGTTGCCCAAGGTC AAG-3' – forward, 5'-AGCCACCTGAGGGGTAAG-3' – reverse). Молекулярна вага ампліфікованого фрагменту складала 433 п.н. Рестрикційний аналіз проводився з використанням ендонуклеази рестрикції AlwI (виробництва Thermo Fisher) відповідно до інструкції виробника. Візуалізація утворених рестрикційних продуктів здійснювалася у 2 % агарозному гелі, залежно від молекулярної ваги утворених фрагментів. За наявності генотипу AA у гелі після розщеплення візуалізували 2 фрагменти молекулярною вагою 328 та 105 п.н. А при появі однонуклеотидної заміни утворювався додатковий сайт рестрикції та внаслідок цього додаткові 2 фрагменти молекулярною вагою 222 та 106 п.н., тому для гетерозиготного варіанта GA було характерно утворення 4 фрагментів – 328, 222, 106 та 105 п.н., а гомозиготного варіанта GG 3 фрагментів – 222, 106 та 105 п.н. Фрагменти молекулярною вагою 106 п.н. та 105 п.н. було візуалізовано у агарозному гелі як один фрагмент [10–12].

Рівень ^{137}Cs в тілі дітей визначали за допомогою лічильника випромінювання людини (ЛВЛ) Скриннер–3М виробництва Інституту екології людини.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою стандартних програм до персонального комп'ютера з використанням пакету програм StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10.

tified in the absence of a corresponding fragment on the electrophoregram. Such genotypes were designated as T1del and M1del. Accordingly, the presence of these fragments on electrophoregrams indicated homo- or heterozygosity by a normal gene copy. The genotype of such patients was designated as T1+ and M1+.

Genomic DNA for molecular genetic study of *GSTP1* (*A313G*) gene polymorphism was isolated from peripheral blood by a commercial test system «innuPREP Blood DNA Mini Kit» («Analytik Jena», Germany) using centrifugal filters. Modified protocols with oligonucleotide primers were used to determine the *GSTP1* (*A313G*) rs1695 gene polymorphic variants by PCR and subsequent restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. The study region of the gene was amplified using specific primers («Metabion», Germany) for *GSTP1* (5'-GTAGTTGCCCAAGGTC AAG-3' – forward, 5'-AGCCACCTGAGGGGTAAG-3' – reverse). The molecular weight of the amplified fragment was 433 bp. Restriction analysis was performed using AlwI restriction endonuclease (manufactured by Thermo Fisher) according to the manufacturer's instructions. Visualization of the formed restriction products was performed in 2 % agarose gel, depending on the molecular weight of the formed fragments. In the presence of the AA genotype in the gel after cleavage, 2 fragments with a molecular weight of 328 and 105 bp were visualized. When a single nucleotide substitution appeared, an additional restriction site was formed and as a result two additional fragments with a molecular weight of 222 bp and 106 bp, so the heterozygous variant GA was characterized by the formation of 4 fragments – 328 bp, 222 bp, 106 bp and 105 bp, and homozygous variant GG by 3 fragments (222 bp, 106 bp and 105 bp). Fragments with a molecular weight of 106 bp and 105 bp were visualized in agarose gel as a single fragment [10–12].

The level of ^{137}Cs in the body of children was determined using a human radiation detector (HRD) Scanner-3M manufactured by the Institute of Human Ecology.

Statistical processing of the obtained data was performed using standard programs by a personal computer with the software package StatSoft, Inc. (2011). STATISTICS (data analysis software system), version 10.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Проведено молекулярно-генетичне дослідження поліморфних варіантів генів *GSTT1* і *GSTM1* у 19 дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА. Його результати порівнювали з даними 48 дітей – мешканців РЗТ, які не мали хронічних захворювань бронхолегеневої системи. Як референтні значення було використано результати обстежень 253 практично здорових людей [6].

Результати досліджень розподілу частот генотипів і поліморфних варіантів гена *GSTT1* у дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, і дітей – мешканців РЗТ, які не мали патології бронхів та легенів, свідчать про те, що відсоток дітей з делеційним варіантом гена *GSTT1* в групі хворих на БА мав чітку тенденцію до підвищення в порівнянні з групою дітей – мешканців РЗТ, які не мали хронічних захворювань бронхолегеневої системи (47,37 % та 22,92 %, $p > 0,05$), і достовірно перевищував референтні значення (47,37 % та 14,23 %, $p < 0,05$) (рис. 1).

При цьому відсоток дітей з варіантом гена *GSTT* «+» у групі хворих на БА мав тенденцію до зниження порівняно з дітьми, які не мали хронічних бронхолегеневих захворювань (52,63 % та 77,08 %, $p > 0,05$), і був достовірно знижений по відношенню до референтних значень (52,63 % та 85,77 %, $p < 0,05$) (рис. 2).

Частота делеційного варіанту гена *GSTM1* «-» у дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, і дітей – мешканців РЗТ, які не мали хронічних захворювань бронхолегеневої системи, статистично значуще не відрізнялася і склала, відповідно 57,89 % та 58,33 % ($p > 0,05$), а гена *GSTM1* «+» – 42,11 % та 41,67 % ($p > 0,05$), (рис. 2).

RESULTS AND DISCUSSIONS

A molecular genetic study of polymorphic variants of the *GSTT1* and *GSTM1* genes was performed in 19 children-residents of RCA, suffering from BA. The results were compared with data of 48 children-residents of RCA, without chronic diseases of the bronchopulmonary system. The results of examined 253 practically healthy people were used as reference values [6].

The results of studying the frequency distribution of polymorphic variants of the *GSTT1* gene in children-residents of RCA, suffering from BA and children-residents of RCA without bronchial and pulmonary pathology, indicate that the percentage of children with a deletion variant of the *GSTT1* gene in the group of patients suffering from BA had a clear tendency to increase compared with the group of children-residents of RCA without chronic diseases of the bronchopulmonary system (47.37 % and 22.92 %, $p > 0.05$), and significantly exceeded the reference values (47.37 % and 14.23 %, $p < 0.05$) (Fig. 1).

The percentage of children with the variant of the *GSTT* gene «+» in the group of patients with BA tended to decrease compared with children without chronic bronchopulmonary diseases (52.63 % and 77.08 %, $p > 0.05$), and was significantly reduced relative to the reference values (52.63 % and 85.77 %, $p < 0.05$) (Fig.2).

The frequency of the *GSTM1* gene deletion variant «-» in children-residents of RCA, those with BA, and children-residents of RCA without chronic diseases of the bronchopulmonary system, did not differ statistically significantly and amounted to 57.89 % and 58.33 %, respectively ($p > 0.05$), and the *GSTM1* «+» gene – 42.11 % and 41.67 % ($p > 0.05$), (Fig. 2).

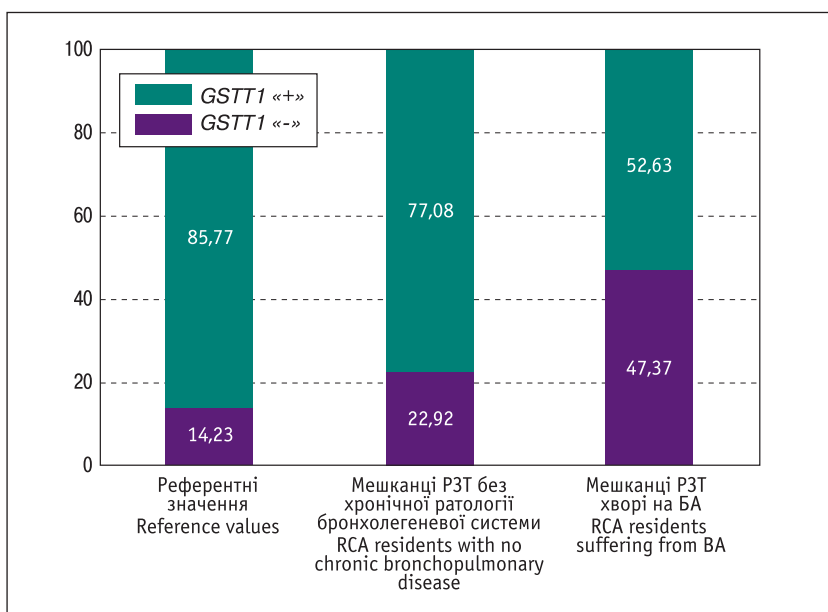


Рисунок 1. Частота поліморфних варіантів генів *GSTT1* у дітей – мешканців РЗТ, які не мали патології бронхів і легенів, і дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА

Figure 1. Frequency of the *GSTT1* gene polymorphic variants in children-residents of RCA without pathology of the bronchi and lungs, and children-residents of RCA suffering from BA

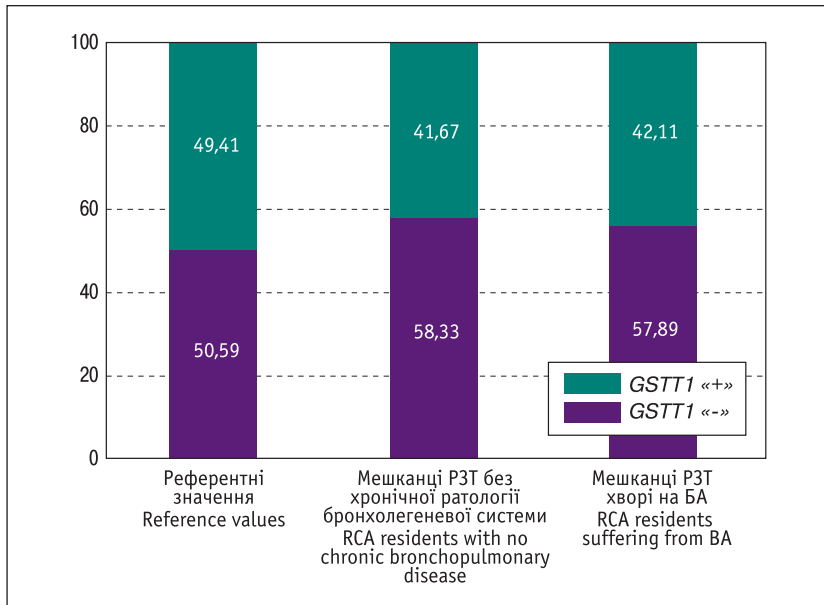


Рисунок 2. Частота поліморфних варіантів генів *GSTM1*, у дітей – мешканців РЗТ, які не мали патології бронхів і легенів, і дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА

Figure 2. Frequency of the *GSTM1* gene polymorphic variants in children-residents of RCA without pathology of the bronchi and lungs, and children-residents of RCA, suffering from BA

Дослідження *AG*-поліморфізму гена *GSTP1* проведено у 67 дітей, з них 48 дітей не мали хронічної бронхолегеневої патології, а 19 дітей були хворі на БА. Як референтні значення було використано результати обстеження 45 практично здорових осіб – мешканців України [18] (табл. 1).

Серед дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, частота *AA*-генотипу становила 26,32 %; *AG*-генотипу – 63,16 %; гомозигот з генотипу *GG* – 10,53 %. В цілому у хворих на БА частота *A*-алеля становила 57,89 %, *G*-алеля – 42,11 % (табл. 1).

Серед дітей – мешканців РЗТ, які не мали патології бронхів та легенів частота *AA*-генотипу становила 37,50 %; *AG*-генотипу – 43,75 %; *GG*-генотипу – 18,75 %, частота розповсюдженості *A*-алеля – 61,29 %, *G*-але-

The study of the *GSTP1* gene *AG*-polymorphism was performed in 67 children, of whom 48 were without chronic bronchopulmonary pathology and 19 children had BA. As reference values, the results of a survey of 45 practically healthy persons-residents of Ukraine were used (Table 1) [18].

Among children-residents of RCA, suffering from BA, the frequency of *AA* genotype was 26.32 %; *AG* genotype – 63.16 %; homozygotes from the *GG* genotype – 10.53 %.

Among children-residents of RCA, without pathology of the bronchi and lungs, the frequency of *AA* genotype was 37.50 %; *AG* genotype – 43.75 %; *GG*-genotype – 18.75 %, the prevalence of *A*-allele – 61.29 %, *G*-allele – 38.71 %. In the group

Таблиця 1

Частота генотипів за поліморфним локусом *A313G* гена *GSTP1* (rs 1965) у дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, та у дітей – мешканців РЗТ, які не мали патології бронхів та легенів

Table 1

Frequency of genotypes by the polymorphic locus of *GSTP1* (*A313G*) rs1695 gene in children-residents of RCA, patients with BA, and in children-residents of RCA without pathology of the bronchi and lungs

Генотип Genotype	Діти-мешканці РЗТ, хворі на БА Children-residents of RCA with BA		Діти-мешканці РЗТ без патології бронхів та легенів Children-residents of RCA without pathology of the bronchi and lungs		Практично здорові мешканці України Practically healthy residents of Ukraine	
	абс. кількість abs. number n = 19	%	абс. кількість abs. number n = 48	%	абс. кількість abs. number n = 45	%
<i>AA</i>	5	26,32*	18	37,50	28	62,22
<i>AG</i>	12	63,16*	21	43,75	16	35,56
<i>GG</i>	2	10,53	9	18,75	1	2,22
<i>A-allele</i>	22	57,89	57	61,29	72	80,00
<i>G-allele</i>	16	42,11	36	38,71	18	20,00

Примітка. *Достовірність різниці показників з групою практично здорових, $p < 0,05$.
Note. *Significant difference with group of practically healthy persons ($p < 0.05$).

ля – 38,71 %. У групі практично здорових людей – мешканців України частота *AA*-генотипу становила 62,22 %, *AG*-генотипу – 35,56 %, *GG*-генотипу 2,22 %. Частота зустрічальності *A*-алеля гена *GSTP1* склала 80,00 %, *G*-алеля – 20,00 % (табл. 1).

У дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, частота генотипу *AA* була достовірно нижчою (26,32 % проти 62,22 %, $p < 0,05$), а генотипу *AG* – достовірно вищою (63,16 % проти 35,56 %, $p < 0,05$), порівняно з практично здоровими особами – мешканцями України. Серед дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, порівняно з дітьми, які не мали хронічної бронхолегеневої патології, простежувалася тенденція до зниження частоти генотипу *AA* (26,3 % і 37,5 %) і підвищення частоти генотипу *AG* (63,2 % і 43,8 %) (табл. 1).

Таким чином, дослідження частоти зустрічальності поліморфних варіантів гена *GSTT1* виявило у групі дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, статистично значуще підвищення відсотка дітей з делеційним варіантом гена *GSTT1* в порівнянні з практично здоровими мешканцями України та чітку тенденцію до підвищення в порівнянні з групою дітей – мешканців РЗТ, які не мали хронічної бронхолегеневої патології. Дослідження частоти поліморфних варіантів гена *GSTM1* виявило у дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, певну тенденцію до підвищення частоти делеційного варіанту, порівняно з референтними значеннями, і відсутність суттєвих відмінностей, порівняно з дітьми – мешканцями РЗТ, які не мали хронічної бронхолегеневої патології.

При дослідженні поліморфізму гена *GSTP1* у дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, встановлено, що частота генотипу *AA* у них була достовірно нижчою, а генотипу *AG* – достовірно вищою, порівняно з практично здоровими особами – мешканцями України. Серед дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, в порівнянні з дітьми – мешканцями РЗТ, які не мали хронічної бронхолегеневої патології, простежувалася чітка тенденція до зниження частоти генотипу *AA* і підвищення частоти генотипу *AG*.

На підставі вивчення анамнестичних даних і медичної документації у дітей – мешканців РЗТ, які не мали хронічної патології бронхів та легенів, дітей хворих на БА, визначено медико-біологічні, соціальні та несприятливі чинники ризику, які можуть сприяти розвитку бронхолегеневої патології.

Встановлено, що формування хронічної бронхолегеневої патології відбувалося на тлі дії складного

of practically healthy people – residents of Ukraine, the frequency of *AA*-genotype was 62.22 %, *AG*-genotype – 35.56 %, *GG*-genotype 2.22 %. The frequency of occurrence of the *A*-allele of the *GSTP1* gene was 80.00 %, the *G*-allele – 20.00 % (Table 1).

In children-residents of RCA, those with BA, the frequency of genotype *AA* was significantly lower (26.32 % vs. 62.22 %, $p < 0.05$), and genotype *AG* – significantly higher (63.16 % vs. 35.56 %, $p < 0.05$), compared with almost healthy individuals-residents of Ukraine. Among children-residents of RCA, patients with BA, compared with children without chronic bronchopulmonary pathology, had a tendency to reduce the frequency of genotype *AA* (26.3 % and 37.5 %) and increase the frequency of genotype *AG* (63.2 % and 43.8 %) (Table 1).

Thus, the study of the incidence of polymorphic variants of the *GSTT1* gene found in the group of children-residents of RCA, suffering from BA, a statistically significant increase in the percentage of children with a deletion variant of the *GSTT1* gene compared to healthy residents of Ukraine and a clear tendency to increase compared to children-residents of RCA without chronic bronchopulmonary pathology. The study of the incidence from the *GSTM1* gene polymorphic variants revealed in children-residents of RCA, suffering from BA, a certain tendency to increase the frequency of the deletion variant compared to the reference values, and the absence of significant differences compared with children-residents of RCA without chronic bronchopulmonary pathology.

In the study of the *GSTP1* gene polymorphism in children-residents of RCT with BA, it was found that the frequency of the *AA* genotype was significantly lower, and that of the *AG* genotype – significantly higher, compared with almost healthy individuals – residents of Ukraine. There was a clear tendency to decrease the frequency of genotype *AA* and increase that of genotype *AG* among children-residents of RCA suffering from BA in comparison with children-residents of RCA without chronic bronchopulmonary pathology.

Medical, biological, social and adverse risk factors that may contribute to bronchopulmonary pathology were identified based on the study of anamnestic data and medical documentation in children-residents of RCA, without chronic pathology of the bronchi and lungs, children with BA.

It is established that the formation of chronic bronchopulmonary pathology occurred against the

комплексу негативних факторів, провідними з яких є обтяжена спадковість, несприятливе мікросоціальне середовище, численні медико-біологічні чинники ризику у матері, деякі патологічні стани дитини в період немовляти, певні особливості раннього дитячого віку та тривале надходження ^{137}Cs до організму харчовими ланцюжками.

Для визначення ймовірного впливу генетичних, медико-біологічних, соціальних і екологічних несприятливих чинників на стан бронхолегеневої системи розраховано величину відносного ризику (RR) з 95 % довірчим інтервалом (CI), оцінкою його достовірності (p), та сили зв'язку між наявністю того чи іншого чинника з розвитком бронхообструктивних порушень та реалізацією у вигляді БА у дітей – мешканців РЗТ.

Результати розрахунків наведено у табл. 2.

Як видно з табл. 2, ризик розвитку БА суттєво зростає у дітей, родинний анамнез яких був обтяжений наявністю БА у родичів першого, другого ступеня споріднення – RR 3,071 (95 % CI: 1,398–6,748), $p < 0,05$; сезонних проявів алергії на цвітіння рослин – RR 5,556 (95 % CI: 2,066–14,937), $p < 0,05$; харчової – RR 3,417 (95 % CI: 1,485–7,861), $p < 0,05$ і медикаментозної алергії – RR 2,434 (95 % CI: 1,164–5,091), $p < 0,05$; алергії на домашніх тварин – RR 3,031 (95 % CI: 1,583–5,805), $p < 0,05$ і домашній пил – RR 2,434 (95 % CI: 1,164–5,091), $p < 0,05$. Сила зв'язку між дією цих негативних чинників та ризиком розвитку БА була помірною, а коефіцієнт ϕ коливався від 0,289 до 0,496.

Соціальні чинники, такі як низький матеріальний рівень родини, а також несприятливе мікросоточення і паління батьків, менше впливали на ризик розвитку БА у дітей.

При аналізі ролі медико-біологічних чинників встановлено, що ризик розвитку БА достовірно зростає у дітей, матері яких мали ускладнений перебіг вагітності – RR 2,703 (95 % CI: 1,224–5,919), $p < 0,05$; за наявності у дитини ознак ексудативно-катарального діатезу – RR 3,669 (95 % CI: 1,492–9,020), $p < 0,05$, харчової алергії на першому році життя – RR 2,464 (95 % CI: 1,150–5,276), $p < 0,05$ та належності до групи частохворюючих – RR 2,464 (95 % CI: 1,150–5,272), $p < 0,05$. Сила зв'язку між цими чинниками та ризиком розвитку БА була помірною. Проте ускладнений перебіг пологів, недоношеність, асфіксія новонароджених, наявність хронічних вогнищ інфекції суттєво не впливали на ризик розвитку БА.

background of a complex set of negative factors, the leading of which are burdened heredity, unfavorable microsocial environment, numerous medical and biological risk factors in the mother, some pathological conditions in infancy, certain features of early childhood and long intake of ^{137}Cs to the body through food chains.

To determine the probable influence of genetic, biomedical, social and environmental adverse factors on the state of the bronchopulmonary system, the value of relative risk (RR) with 95 % confidence interval (CI), assessment of its significance (p), and the strength of the relationship between the presence of one or another factor with the development of bronchoobstructive disorders and the implementation as BA in children-residents of RCA.

The results of calculations are given in Table 2.

As can be seen from table 2, the risk of developing bronchial asthma was significantly increased in children whose family history was burdened by the presence of BA in relatives of the first, second degrees of kinship – RR 3.071 (95 % CI: 1.398–6.748), $p < 0.05$; seasonal manifestations of allergy to flowering plants – RR 5.556 (95 % CI: 2.066–14.937), $p < 0.05$; food – RR 3.417 (95 % CI: 1.485–7.861), $p < 0.05$ and drug allergy – RR 2.434 (95 % CI: 1.164–5.091), $p < 0.05$; allergies to domestic animals – RR 3.031 (95 % CI: 1.583–5.805), $p < 0.05$ and house dust – RR 2.434 (95 % CI: 1.164–5.091), $p < 0.05$. The strength of the relationship between the action of these negative factors and the risk of developing BA was moderate, and the coefficient ϕ ranged from 0.289 to 0.496.

Social factors such as the low material (financial) level of the family, as well as the unfavorable microenvironment and smoking of parents have less influence on the risk of developing BA in children.

When analyzing the role of medical and biological factors, it was found that the risk of developing BA was significantly increased in children whose mothers had a complicated pregnancy – RR 2.703 (95 % CI: 1.224–5.919), $p < 0.05$; if the child has signs of exudative-catarrrhal diathesis – RR 3.669 (95 % CI: 1.492–9.020), $p < 0.05$, food allergy in the first year of life – RR 2.464 (95 % CI: 1.150–5.276), $p < 0.05$ and belonging to the group of frequent sickening ones – RR 2.464 (95 % CI: 1.150–5.272), $p < 0.05$. The relationship between these factors and the risk of developing BA was moderate. However, complicated childbirth course, prematurity, asphyxia of newborns, the presence of chronic foci of infection did not significantly affect the risk of developing BA.

Таблиця 2

Частота генотипів за поліморфним локусом *A313G* гена *GSTP1* (rs 1965) у дітей – мешканців РЗТ, хворих на БА, та у дітей – мешканців РЗТ, які не мали патології бронхів та легенів

Table 2

Frequency of genotypes by the polymorphic locus of *GSTP1* (*A313G*) rs1695 gene in children-residents of RCA, patients with BA, and in children-residents of RCA without pathology of the bronchi and lungs

№	Чинник ризику Risk factor	Показники / Indices			сила зв'язку, φ strength of relationship, φ
		RR	95 % довірчий інтервал 95 % confidence interval,	p	
1	Наявність у родичів першого та другого ступеня споріднення БА Presence of BA in first and second degree relatives	3,071	1,398–6,748	< 0,05	0,359 помірна/moderate
2	Сезонні прояви алергії на цвітіння рослин у родинному анамнезі Seasonal allergy to flowering plants in the family history	5,556	2,066–14,937	< 0,05	0,496 помірна/moderate
3	Наявність у родинному анамнезі харчової алергії Presence of food allergy in the family history	3,417	1,485–7,861	< 0,05	0,382 помірна/moderate
4	Наявність у родинному анамнезі медикаментозної алергії Presence of drug allergy in the family history	2,434	1,164–5,091	< 0,05	0,289 помірна/moderate
5	Наявність у родинному анамнезі алергії на домашніх тварин Presence of allergy to pets (domestic animals) in the family history	3,032	1,583–5,805	< 0,05	0,337 помірна/moderate
6	Наявність у родинному анамнезі алергії на домашній пил House dust allergy in the family history	2,434	1,164–5,091	< 0,05	0,289 помірна/moderate
7	Паління батьків Smoking of parents	1,567	0,705–3,786	> 0,05	0,138 слабка/weak
8	Несприятливе мікросоціальне оточення Unfavorable microsocial environment	1,841	0,876–3,867	> 0,05	0,195 слабка/weak
9	Низький матеріальний рівень родини Low material level of the family	1,166	0,520–2,617	> 0,05	0,045 несуттєва/insignif.
10	Ускладнений перебіг вагітності Complicated pregnancy course	2,703	1,224–5,969	< 0,05	0,314 помірна/moderate
11	Ускладнений перебіг пологів Complicated childbirth course	1,747	0,811–3,764	> 0,05	0,165 слабка/weak
12	Недоношеність Prematurity	1,196	0,360–3,977	> 0,05	0,035 несуттєва/insignif.
13	Асфіксія новонароджених Asphyxia of newborns	1,906	0,772–4,708	> 0,05	0,151 слабка/weak
14	Екзудативно-катаральний діатез у період немовляти та ранньому дитячому віці / Exudative-catarrhal diathesis in infancy and early childhood	3,669	1,492–9,020	< 0,05	0,386 помірна/moderate
15	Наявність харчової алергії на першому році життя The presence of food allergies in the first year of life	2,464	1,150–5,276	< 0,05	0,290 помірна/moderate
16	Відхилення в стані здоров'я у віці до 3 років Deviations in health under 3 years	1,991	0,941–4,212	> 0,05	0,221 слабка/weak
17	Наявність хронічних осередків інфекції The presence of chronic foci of infection	1,673	0,558–5,016	> 0,05	0,119 слабка/weak
18	Належність до групи часто хворюючих Belonging to a group of frequent sickning	2,464	1,150–5,276	< 0,05	0,290 помірна/moderate
19	<i>GSTT1</i> «–»	2,115	1,016–4,402	< 0,05	0,289 помірна/moderate
20	<i>GSTM1</i> «–»	1,781	1,008–3,147	< 0,05	0,353 помірна/moderate
21	<i>GSTT1</i> «–»; <i>GSTM1</i> «–»	2,423	1,193–4,922	< 0,05	0,277 помірна/moderate
22	<i>GSTT1</i> «–»; <i>GSTP1</i> AG	2,423	1,193–4,922	< 0,05	0,277 помірна/moderate
23	<i>GSTM1</i> «–»; <i>GSTP1</i> AG	2,226	1,077–4,60	< 0,05	0,265 помірна/moderate

При дослідженні поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази (*GSTT1*, *GSTM1* і *GSTP1*) встановлено, що ризик розвитку БА суттєво зростав у дітей з делеційними генотипами генів *GSTT1* –

In the study of glutathione-S-transferase gene polymorphism (*GSTT1*, *GSTM1* and *GSTP1*) it was found that the risk of developing BA was significantly increased in children with *GSTT1* deletion genotypes –

RR = 2,115 (95 % CI: 1,016–4,402), $p < 0,05$ і GSTM1 – RR = 1,781 (95 % CI: 1,008–3,147), $p < 0,05$, сила зв'язку між цими параметрами була помірною, а коефіцієнт ϕ дорівнював, відповідно, 0,289–0,353.

Що стосується гена *GSTP1*, то визначено підвищення ризику розвитку БА у дітей – мешканців РЗТ при поєднанні *313AG* поліморфізму гена *GSTP1* з делеційним варіантом гена *GSTT1* або GSTM1, при цьому величина ризику БА дорівнювала відповідно, RR = 2,423 (95 % CI: 1,193–4,922), $p < 0,05$ та RR = 2,226 (95 % CI: 1,077–4,601), $p < 0,05$, а сила зв'язку варіювала в межах 0,265–0,277. Негативним також було поєднання делеційних генотипів генів *GSTT1* і *GSTM1*, RR = 2,433 (95 % CI: 1,193–4,922), $p < 0,05$.

ВИСНОВКИ

1. Молекулярно-генетичні дослідження розподілу частот поліморфних варіантів генів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, проведені у дітей – мешканців РЗТ, показали, що у дітей хворих на БА, спостерігається тенденція до підвищення частоти делеційного варіанта генів *GSTT1* і *GSTM1*, порівняно з дітьми, які не мали патології бронхів та легенів.
2. Дослідження частоти генотипів за поліморфним локусом *A313G* гена *GSTP1* (rs 1965) виявило у дітей, хворих на БА, достовірне підвищення частоти *AG*-генотипу і зниження частоти *AA*-генотипу, порівняно з практично здоровими особами, та чітку тенденцію до зниження частоти генотипу *AA* і підвищення частоти генотипу *AG* у дітей – мешканців РЗТ, які не мали патології бронхів та легенів.
3. Визначені несприятливі чинники, що підвищують ризик розвитку бронхообструктивних порушень та ймовірність їх реалізації у вигляді бронхіальної астми у дітей – мешканців РЗТ. Встановлено, що серед них провідну роль відіграє спадкова схильність до цього захворювання, яка характеризується наявністю в родині, особливо серед родичів першого та другого ступеня споріднення осіб, хворих на БА, та осіб з різноманітними формами алергії. З боку дитини такими негативними чинниками виявилися несприятливі умови внутрішньо-утробного розвитку, наявність ознак ексудативно-катарального діатезу, проявів алергії та частих респіраторних захворювань з перших місяців життя.
4. Встановлено, що ризик розвитку БА суттєво зростає у дітей з делеційними генотипами генів *GSTT1* і *GSTM1*; визначено підвищення ризику

RR = 2.115 (95 % CI: 1.016–4.402), $p < 0.05$ and GSTM1 – RR = 1.781 (95 % CI: 1.008–3.147), $p < 0.05$, the strength of the relationship between these parameters was moderate, and the coefficient ϕ was equal to 0.289–0.353, respectively.

With regard to the *GSTP1* gene, an increased risk of developing BA in children-residents of RCA was determined when combining the *GSTP1* (*A313G*) rs1695 gene polymorphism with a deletion variant of the *GSTT1* or *GSTM1* gene, with the risk of BA being RR = 2.423 (95 % CI: 1.193–4.922, respectively), $p < 0.05$ and RR = 2.226 (95 % CI: 1.077–4.601), $p < 0.05$, and the strength of relationship varied between 0.265–0.277. The combination of *GSTT1* and *GSTM1* gene deletion genotypes was also negative, RR = 2.433 (95 % CI: 1.193–4.922), $p < 0.05$.

CONCLUSIONS

1. Molecular genetic studies of the frequency distribution of *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* gene polymorphic variants, conducted in children-residents of RCA, showed that in children with BA, there was a tendency to increase the frequency of the *GSTT1* and *GSTM1* gene deletion variant, compared with children without pathology of the bronchi and lungs.
2. A study of the frequency of genotypes by the polymorphic locus of *GSTP1* (*A313G*) rs1695 gene found in children with BA a significant increase in the frequency of the *AG* genotype and a decrease in that of the *AA* genotype compared to almost healthy individuals, and a clear tendency to decrease the frequency of the *AA* genotype and increase the frequency of genotype *AG* in children – residents of RCA, without pathology of the bronchi and lung.
3. Adverse factors that increase the risk of developing bronchoobstructive disorders and the probability of their implementation in the form of bronchial asthma in children-residents of RCA. It was established that among them the leading role is played by hereditary predisposition to this disease, which is characterized by the presence in the family, especially among relatives of the first and second degree of kinship of persons with BA and those with various forms of allergies. On the part of the child, such negative factors were unfavorable conditions of fetal development, the presence of signs of exudative-catarrhal diathesis, manifestations of allergies and frequent respiratory diseases from the first months of life.
4. It was established that the risk of developing BA was significantly increased in children with the *GSTT1* and *GSTM1* gene deletion genotypes; increased risk

розвитку БА у дітей при поєднанні 313AG поліморфізму гена *GSTP1* з делеційним поліморфізмом гена *GSTT1* або *GSTM1*; негативним також було поєднання делеційних генотипів генів *GSTT1* і *GSTM1*.

5. Доведено, що одним із провідних механізмів, завдяки якому відбувається реалізація спадкової схильності в бронхіальну астму у дітей, які мешкають за умов постійного надходження до організму радіонуклідів з тривалим періодом напіврозпаду, є поліморфізм певних генів глутатіон-S-трансферази, а саме, делеційний поліморфізм генів *GSTT1*, *GSTM1* і *AG313* та поліморфізм гена *GSTP1*.

Інформація про фінансування

Дослідження виконані в рамках науково-дослідної роботи «Дослідити роль алельного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази класів P1 (*GSTP1*), T1 (*GSTT1*) і M1 (*GSTM1*) та інших факторів у розвитку бронхообструктивних порушень у дітей – мешканців радіоактивно забруднених територій» (шифр 589, № держреєстрації 0118U003769).

Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Health consequences of Chernobyl disaster in children exposed to ionizing radiation and children born to exposed parents / E. Stepanova, V. Vdovenko, I. Kolpakov et al. In: *Health effects of the Chernobyl accident – thirty years aftermath* / ed. by D. Bazyka, V. Sushko, A. Chumak, V. Chumak, L. Yanovych. Kyiv : DIA, 2016. P. 484–496.
2. Functional state of the respiratory and immune system in children-residents of the radioactive contaminated territories / I. Ye. Kolpakov, V. N. Parkhomenko, V. Yu. Vdovenko et al. *Лікарська справа (Врачебное дело)*. 2011. № 1–2. С. 21–29.
3. Reduced lung function in children associated with Cesium 137 body burden / E. R. Svendsen, I. E. Kolpakov, W. J. Karmaus et al. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015. Vol. 12, no. 7. P. 1050–1070. doi: 10.1513/AnnalsATS.201409-432OC.
4. Спицын В. А., Бочковская Н. П., Гинтера Г. К., Пузырева В. П. Экологическая генетика человека. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. 244–283.
5. Молекулярно-генетичні аспекти бронхіальної гіперреактивності у дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій / Є. І. Степанова, І. Є. Колпаков, В. Ю. Вдовенко та ін. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. Випуск 25. 2020. С. 531–543
6. Горovenko Н. Г., Подольська С. В., Чернюк Н. В. Визначення молекулярно-генетичних маркерів спадкової схильності до виникнення хронічного обструктивного захворювання легень. *Український пульмонологічний журнал*. 2009. № 4. С. 13–16.

of developing BA in children under a combination of *GSTP1* (*AG313*) gene polymorphism with the *GSTT1* or *GSTM1* gene deletion polymorphism; the combination of deletion genotypes of *GSTT1* and *GSTM1* genes was also negative.

5. It is proved that one of the leading mechanisms, due to which there is a realization of hereditary predisposition to bronchial asthma in children living under constant intake of radionuclides with a long half-life, is the polymorphism of certain glutathione-S-transferase genes, namely, *GSTT1*, *GSTM1* and *AG313* gene deletion polymorphism and *GSTP1* gene polymorphism.

Funding information

The research was performed as part of research work «Investigate the role of allelic gene polymorphism of glutathione-S-transferase P1 class (*GSTR1*) T1 (*GSTT1*) and M1 (*GSTM1*) and other factors in development of broncho-obstructive disorders in children – residents of contaminated areas» (code 598 № state registration 0118U003769).

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Stepanova E, Vdovenko V, Kolpakov I, Svendsen ER, Kondrashova V, McMahon D M, Litvynets O, Zygalo V, Karmaus WJJ. Health consequences of Chernobyl disaster in children exposed to ionizing radiation and children born to exposed parents. In: Bazyka D, Sushko V, Chumak A, Chumak V, Yanovych L, editors. *Health effects of the Chernobyl accident – thirty years aftermath*. Kyiv: DIA; 2016. p. 484-496.
2. Kolpakov IYe, Vdovenko VYu, Stepanova YeI, Bazyka DA, Karmaus WJJ, Svendsen ER. [Functional state of the respiratory and immune system in children-residents of the radioactive contaminated territories]. *Likarska Sprava*. 2011;(1-2):21-29. Ukrainian.
3. Svendsen ER, Kolpakov IYe, Karmaus WJJ, Mohr LC, Vdovenko VYu, McMahon DM, Jelin BA, Stepanova YeI. Reduced lung function in children associated with cesium 137 body burden. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12(7): 1050-1070.
4. Spitsyn VA, Bochkovskaya NP, Gintera GK, Puzyreva VP. [Ecological human genetics]. Moscow: GEOTAR - Media; 2012. p. 244-283. Russian.
5. Stepanova YeI, Kolpakov IYe, Vdovenko VYu, Zygalo VM, Kondrashova VH, Leonovich OS. Molecular genetic aspects of bronchial hyperreactivity in children-residents of radioactively contaminated. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2020;25:531-542.
6. Horovenko NH, Podolska SV, Chernyuk NV. [Determination of molecular genetic markers of hereditary predisposition to chronic obstructive pulmonary disease occurrence]. *Ukrainskyi pulmonologichnyi zhurnal*. 2009;(4):13-16. Ukrainian.

7. Знаменська Т. К., Похилько В. І., Ковальова О. М. Асоціації між поліморфізмом *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* генів у індивідуумів та схильністю їх до окремих захворювань (огляд літератури). *Перинатологія і педіатрія*. 2012. № 3. С. 66–70.
8. Тяжка О. В., Горovenko Н. Г., Савенко Ю. В. Вплив поліморфних варіантів генів *GSTT1*, *GSTM1* та *GSTP1* на перебіг алергічної патології у дітей. *Проблеми спадкової та мультифакторної патології: науково-практична конференція з міжнародною участю: матеріали конф.* Київ, 2012. С. 108–109.
9. Дослідження асоціації поліморфізму генів сімейства глутатіон-S-трансфераз: *GSTM1*, *GSTT1* та *GSTP1* з розвитком бронхлегеневої дисплазії та потребою в респіраторній підтримці / О. М. Ковальова, В. І. Похилько, З. І. Россоха та ін. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2014. Т. 4, № 2. С. 50–57.
10. A longitudinal study of the effect of *GSTT1* and *GSTM1* gene copy number on survival / L. Christiansen, C. Brasch-Andersen, L. Bathum et al. *Mech. Ageing Dev.* 2006. Vol. 127, no. 7. P. 697–599. doi: 10.1016/j.mad.2006.02.003.
11. Hayes J. D., Flanagan J. U., Jowsey I. R. Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005. Vol. 45. P. 51–88. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857.
12. Тюменцева Е. С., Петрова Н. В., Балаболкин И. И., Пинелис В. Г. Использование молекулярно-генетических методов исследования наследственных основ предрасположенности к atopическим болезням у детей. *Рос. аллерголог. журн.* 2011. № 3. С. 48–55.
13. Брагина Е. Ю., Фрейдин М. Б., Тен И. А., Огородова Л. М. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков *GSTT1*, *GSTM1*, *CYP2E1* и *CYP2C19* у больных atopической бронхиальной астмой. *Бюл. СО РАМН*. 2005. № 3 (117). С. 121–125.
14. Фрейдин М. Б., Пузырев В. П. Синтропные гены аллергических заболеваний. *Генетика*. 2010. Т. 46, № 2. С. 224–229.
15. Just J., Nisakinovic L., Laoudi Y., Grimfeld A. [Air pollution and asthma in children]. *Arch. Pediatr.* 2006. Vol. 7. P. 1055–1060. doi: 10.1016/j.arcped.2006.03.147. French.
16. Литвинець Л. Я., Синовeрська О. Б., Гнатейко О. З. Вклад генів детоксикації ксенобиотиків у формування фенотипових особливостей бронхіальної астми у дітей прикарпаття. *Современная педиатрия*. 2012. Т. 46, № 6. С. 130–133.
17. Study on possible role of *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *NAT2* and *ADRB2* genes polymorphisms in bronchial asthma development in children / P. F. Tatarsky, N. G. Chumachenko, A. M. Kucherenko et al. *Biopolymers and Cell*. 2011. Vol. 27, no. 1. P. 66–73. DOI: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000084>.
18. Присяжнюк В. П., Россоха З. І., Горovenko Н. Г. Варіювання окремих біохімічних показників, цитокінового та адипокінового профілів крові, структурно-функціональних параметрів печінки хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки з різними генотипами за поліморфним локусом *A313G* гена *GSTP1*. *Цитологія і генетика*. 2017. Т. 51, № 6. С. 50–57.
7. Znamenska TK, Pokhylko VI, Kovaliova OM. [Associations between the polymorphism of *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* genes in individuals and their susceptibility to certain diseases (literature review)]. *Perinatologiya i Pediatriya*. 2012;(3):66-70. Ukrainian.
8. Tyazhka OV, Horovenko NH, Savenko YuV. [Influence of polymorphic variants of *GSTT1*, *GSTM1* and *GSTP1* genes on the course of allergic pathology in children]. *Problems of hereditary and multifactorial pathology: scientific-practical conference with international participation: Proceedings of the conference*. Kyiv; 2012. p. 108-109. Ukrainian.
9. Kovalyova OM, Pokhylko VI, Rossokha ZI, Gorovenko NH, Goncharova YuO. [The research of gene polymorphism of glutathione-S-transferase family association: *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* with the development of bronchopulmonary dysplasia and necessity in respiratory support]. *Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine*. 2014;4(2):50-57. Ukrainian.
10. Christiansen L, Brasch-Andersen C, Bathum L, Kruse TA, Christensen K. A longitudinal study of the effect of *GSTT1* and *GSTM1* gene copy number on survival. *Mech Ageing Dev.* 2006;127(7):697-599. doi: 10.1016/j.mad.2006.02.003.
11. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 2005;45:51-88. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857.
12. Tumentseva ES, Petrova NV, Balabolkin II, Pinelis VG. [Use of molecular genetic methods in the study of hereditary predisposition to atopical diseases in children]. *Russian Journal of Allergy*. 2011;3:48-55. Russian.
13. Bragina YeYu, Freydin MB, Ten I A, Ogorodova LM. [Polymorphism of genes of biotransformation of xenobiotics *GSTT1*, *GSTM1*, *CYP2E1* and *CYP2C19* in patients with atopical bronchial asthma]. *Byul. SO RAMN*. 2005;(3):121-125. Russian.
14. Freydin MB, Puzyrev VP. [Syntropic genes for allergic diseases]. *Genetika*. 2010;46(2):224-229. Russian.
15. Just J, Nisakinovic L, Laoudi Y, Grimfeld A. Pollution et asthme de l'enfant [Air pollution and asthma in children]. *Arch Pediatr.* 2006 Jul;13(7):1055-1060. doi: 10.1016/j.arcped.2006.03.147. French.
16. Lytvynets' LYa, Synovers'ka OB, Hnateyko OZ. [The contribution of xenobiotic detoxification genes to the formation of phenotypic features of bronchial asthma in children of Prykarpattia]. *Sovremennaya pediatriya*. 2012;46(6):130-133. Ukrainian.
17. Tatarsky PF, Chumachenko NG, Kucherenko AM, Gulkovskyi RV, Arabskaya LP, Smirnova OA, et al. Study on possible role of *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *NAT2* and *ADRB2* genes polymorphisms in bronchial asthma development in children. *Biopolymers and Cell*. 2011;27(1):66-73. DOI: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000084>
18. Prysyzhnyuk VP, Rossokha ZI, Gorovenko NG. Variations of certain biochemical blood parameters, cytokine and adipokine profiles, structural and functional parameters of the liver in nonalcoholic fatty liver disease patients with different genotypes by the polymorphic locus *A313G* of *GSTP1* gen. *Tsitol Genet.* 2017;51(6):50-57. Ukrainian.

19. Анохин М. И. Компьютерная спирометрия у детей. М. : Бином, 2012. 104 с.

19. Anokhin MI. Computer spirometry in children. Mosca: Binom, 2012. 104 p. Russian.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Степанова Євгенія Іванівна, д-р мед. наук, професор, завідувач відділу радіаційної педіатрії, вродженої та спадкової патології, Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0002-7414-6542

Колпаков Ігор Євгенович, д-р мед. наук, провідний науковий співробітник відділу радіаційної педіатрії, вродженої та спадкової патології, Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0002-8965-7265

Вдовенко Віталій Юрійович, канд. мед. наук, провідний науковий співробітник відділу радіаційної педіатрії, вродженої та спадкової патології, Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0002-4519-8108

Зигало Віктор Миколайович, канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу радіаційної педіатрії, вродженої та спадкової патології, Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ

Альохіна Світлана Михайлівна, канд. біол. наук, провідний науковий співробітник, Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ

Кондрашова Валентина Григорівна, канд. мед. наук, провідний науковий співробітник відділу радіаційної педіатрії, вродженої та спадкової патології, Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0001-9875-7981

Леонович Олена Семенівна, завідувач відділення вродженої та спадкової патології, Клініка ННЦРМ, м. Київ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Yevgenia I. Stepanova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Radiation Pediatrics, Congenital and Hereditary Pathology, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-7414-6542

Igor Ye. Kolpakov, Doctor of Medical Sciences, Leading researcher of the Department of Radiation Pediatrics, Congenital and Hereditary Pathology, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-8965-7265

Vitaly Yu. Vdovenko, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher, Department of Radiation Pediatrics, Congenital and Hereditary Pathology, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-4519-8108

Victor M. Zyhalo, Candidate of Medical Sciences, Department of Radiation Pediatrics, Congenital and Hereditary Disease, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Svitlana M. Al'okhina, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Valentyna G. Kondrashova, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher, Department of Radiation Pediatrics, Congenital and Hereditary Pathology, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-9875-7981

Olena S. Leonovych, Head of the Department of Congenital and Hereditary Pathology, Clinic of NRCRM, Kyiv, Ukraine

Стаття надійшла до редакції 13.03.2021

Received: 13.03.2021