

Полиморфизми на единични нуклеотиди при ADAM33

Д-р Гергана Петрова, д-р Димитринка Митева, проф. Пенка Переновска
Клиника по педиатрия, УМБАЛ „Александровска“

Резюме

Астмата е хронично възпалително заболяване на дихателните пътища, чийто естествен ход се манифестира с прогресиращ спад в показателите на дихателната функция като ФЕО₁ (форсиран експираторен обем за 1 секунда) и постоянна бронхиална хиперреактивност, които най-вероятно са директно повлияни и от възпалителни и от структурни изменения. Генът за дисинтегрин металопротеаза (A disintegrin and metalloproteinase 33 – ADAM33) е първият ген за предразположеност към астма, открит чрез позиционално клониране през 2002 г. и определен за ген на ремодулирането на дихателните пътища. Полиморфизмите на единични нуклеотиди (single nucleotide polymorphisms – SNPs) на ADAM33 са асоциирани с ускорен спад в белодробната функция на пациенти с бронхиална астма, проследявани за повече от 20 години. SNPs на ADAM33 са свързани с понижени белодробни функции в проспективно кохортно проучване при новородени.

До момента резултатите, публикувани в научната литература, характеризират повече от 20 различни SNPs на ADAM33 съобразно етническата принадлежност на изследваната група. За България подобни изследвания липсват. Авторите предлагат методика и евентуално определяне на най-вероятностните SNPs на ADAM33, свързани с българската популация, на базата на обширен и задълбочен анализ на достъпната медицинска литература.

Ключови думи: бронхиална астма, ADAM33, полиморфизми на единични нуклеотиди (SNPs)

Single Nucleotide Polymorphisms In ADAM33

Gergana Petrova, Dimitrinka Miteva, Penka Perenovska
Pediatrics clinic, UMHAT „Alexandrovska“

Abstract

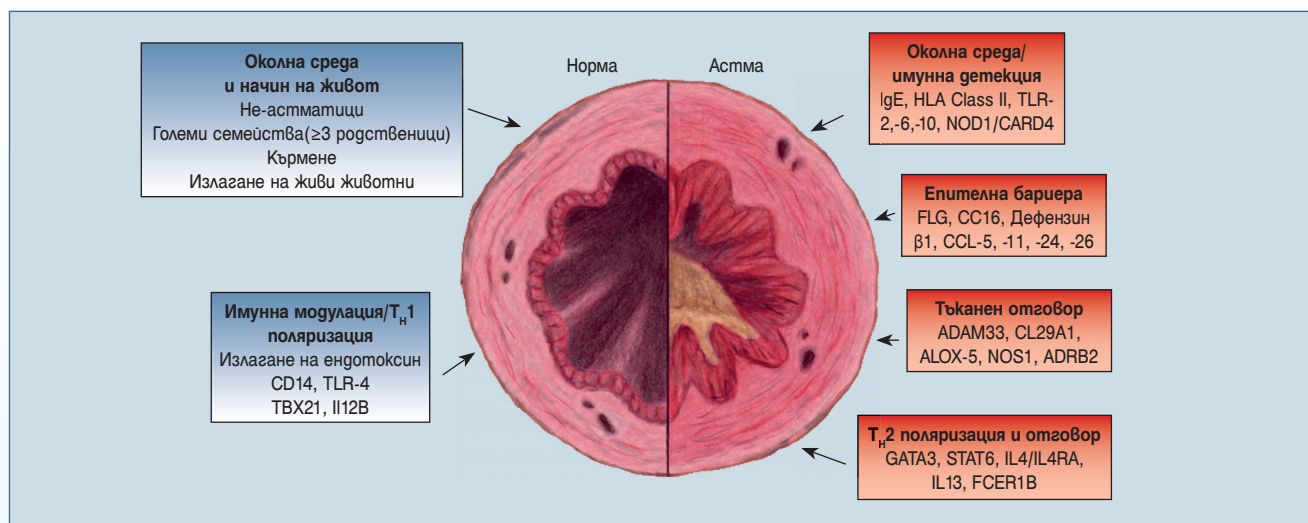
Asthma is a chronic inflammatory disease of the airways whose natural course is manifested by a progressive decline in lung function indicators such as FEV₁ (forced expiratory volume in 1 second) and persistent bronchial hyperreactivity, which are probably directly influenced by inflammatory and of structural changes. Disintegrin metalloprotease (A disintegrin and metalloproteinase 33 – ADAM33) is the first gene for susceptibility to asthma discovered through positional cloning in 2002 and is set for gene remodeling of the airways. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of ADAM33 are associated with an accelerated decline in the function of pulmonary function in asthmatics followed for more than 20 years. ADAM33 SNPs are associated with reduced lung function in a prospective cohort study in neonates.

So far the results published in the scientific literature characterized more than 20 different ADAM33 SNPs according to the ethnicity of the study group. For Bulgaria there are no similar studies. The authors propose a methodology and possibly determine the most probable of ADAM33 SNPs associated with the Bulgarian population based on extensive and in-depth analysis of the available medical literature

Key words: asthma, ADAM33, single nucleotide polymorphisms (SNPs)

Бронхиалната астма е най-честото хронично заболяване в детската възраст (8–10% от всички деца). Характеризира се с хронично възпаление на дихателните пътища, в патогенезата на което играят роля много

клетки (възпалителни и структурни) – Т-лимфоцити, еозинофили, мастоцити, макрофаги, епителни клетки, фибробласти и гладкомускулни клетки на бронхите. Отделят се проинфламаторни и цитотоксични ме-



Фиг. 1. Протективни (в сини квадрати) и рискови (в червени квадрати) фактори за бронхиална астма¹¹

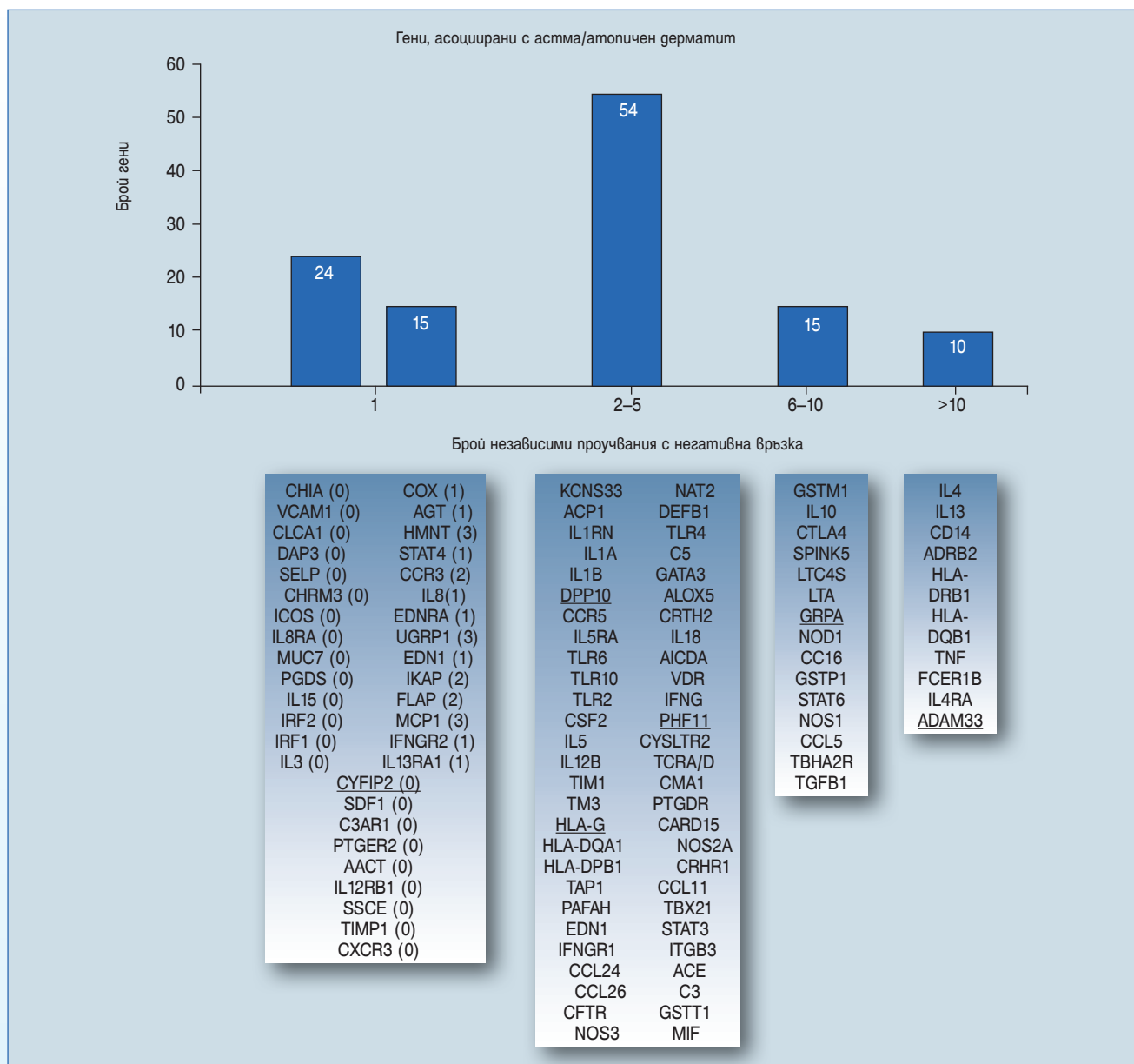
диатори и цитокини, което води до вариативна, различно изразена и спонтанно или под влияние на лечението обратима дифузна обструкция и до повишение на бронхиалния отговор към различни специфични и неспецифични стимули. Около 80% от астматиците са диагностицирани преди 6-та им година, което доказва ранното начало на заболяването, чийто естествен ход се манифестира с прогресиращ спад в показателите на дихателната функция като ФЕО₁ (форсиран експираторен обем за 1 секунда) и постоянна бронхиална хиперреактивност (БХР), които най-вероятно са директно повлияни и от възпалителни, и от структурни изменения.

Бронхиалната астма е хетерогенно заболяване, чийто риск, първоначална изява и тежест са повлияни от различни биологични механизми, взаимодействащи с фактори от околната среда (фиг. 1)¹¹. Тези биологични механизми са повлияни от множество гени, които допълнително спомагат за развитието на симптомите. Броят на гените, които допринасят за риска от астма, може би е над 100, но всеки може да има индивидуален ефект с различна проява¹. До момента над 100 кандидат-гени са проучвани, но само 10 от тях имат позитивна асоциация при повече от 10 независими проучвания. Всички гени с потвърдени повече от 6 независими изследвания се считат като истински свързани гени за развитие на определен фенотип (фиг. 2)⁵.

ADAM е абревиатура за трансмембранен протеин (цинк-зависима металопроотеиназа – A Disintegrin and Metalloprotease) с потенциални протезани и адхезионни свойства. Се-

мейството на ADAM-протеините се състои от 35 белтъка, от които подсемействата ADAM12, 15 и 19 проявяват протеолитична активност. ADAM-протеините са структурно свързани с дизинтегрините в змийската отрова и участват в редица биологични процеси, включващи междуклетъчни и клетъчно-екстрацелуларни взаимодействия като оплождане, мускулно развитие и невrogenеза. Белтъкът ADAM33 се експресира във всички тъкани с изключение на черния гроб, предимно в гладкомускулни клетки, миофибробласти, фибробласти. Точната му роля в развитието на астма и БХР все още е неясна, но се предполага участието му в ремоделирането на дихателните пътища. Генът, кодиращ ADAM33, е първият ген за предразположеност към развитие на бронхиална астма и БХР, който е открит чрез позиционално клониране през 2002 г. и е определен за ген на ремодулирането на дихателните пътища^{14, 22}. Потвърден е в над 20 независими изследвания за връзка между генотип и фенотип. Генният locus на ADAM33 се намира в късото рамо на 20 хромозома – 20p13. С наличните данни до момента може да се предположи, че ADAM33 е може би много важен за специфични форми на астма; може би е по-важен при не-атопичната в сравнение с атопичната астма; може би засяга белодробните функции повече от атопичния статус; някои фактори от околната среда, като пасивно тютюнопушене, може потенциално да взаимодействат с ADAM33 при ремодулицията в белите дробове^{15, 20}.

Идентифицирани са 37 полиморфизми на



Фиг. 2. Кандидат-гени за бронхиална астма/атоличен дерматит. Подчертани са тези с позиционално клониране⁵

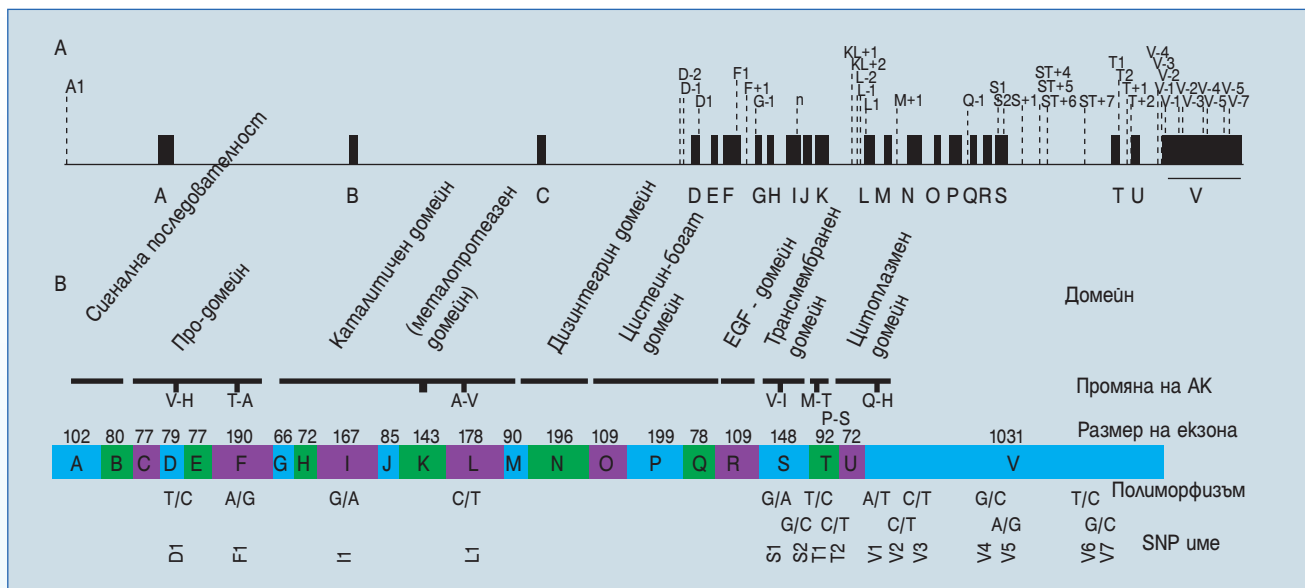
единични нуклеотиди (single nucleotide polymorphisms – SNPs) на ADAM33, някои от които са с разнопосочни асоциации между фенотиповете на астмата и БХР, което се дължи вероятно на хетерогенността на изследваните групи или на различни дефиниции за астма, използвани при изследванията (фиг. 3)^{3,4}.

Най-често изследваните и с най-голямо отражение върху развитието и прогреса на бронхиалната астма полиморфизми на ADAM33 са дадени на фиг. 4¹⁷.

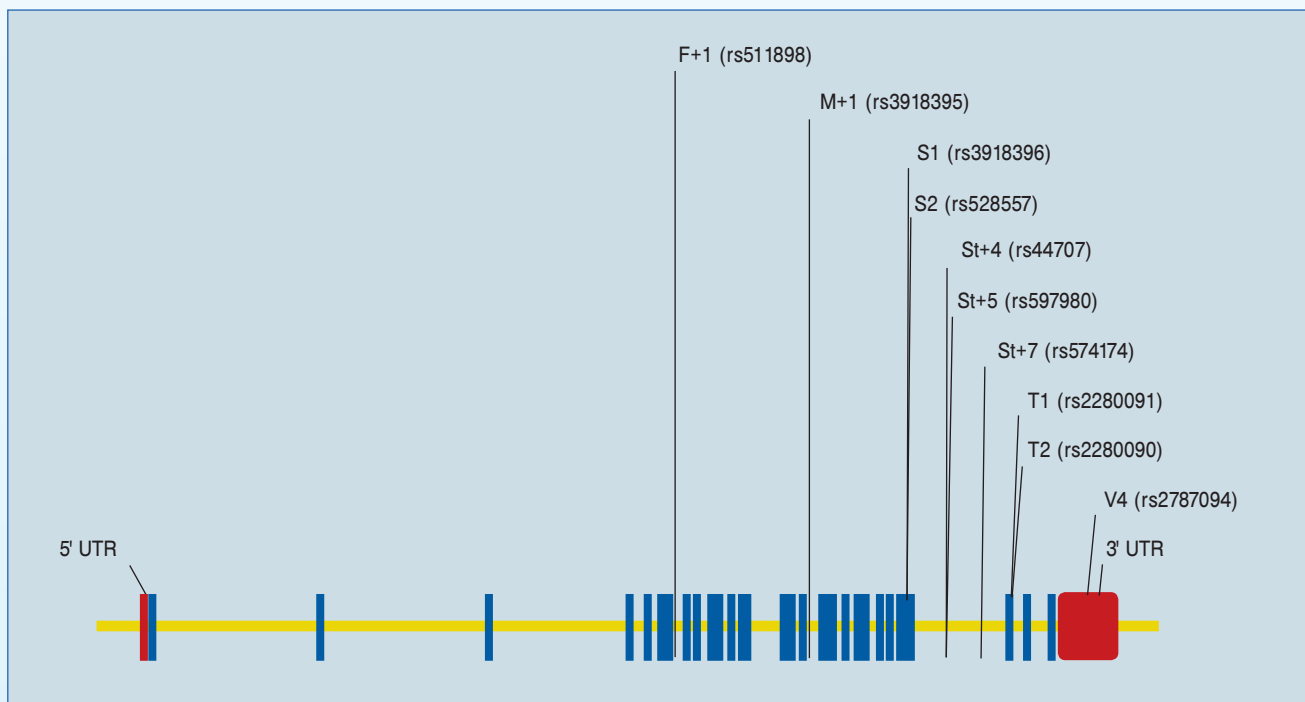
SNPs на ADAM33 (Q-1, S2) са асоциирани с ускорен спад в белодробната функция на пациенти с белодробна астма, проследявани за повече от 20 години¹⁸. Също така са свързани с понижени белодробни функции в про-

спективно кохортно проучване при новородени¹⁷. Минорните алели на S+1, ST+4 и T2 се предават на засегнатото от астма поколение ($p < 0.05$), подкрепяйки унаследяването на астмата и отчитането на наследствената обремененост за заболяването^{2, 19}.

Доказано е, че ADAM33 полиморфизмите са свързани с намалена белодробна функция на 3–5-годишна възраст (F+1) и намалено FEV1 (F+1, M+1, T1 и T2), подкрепяйки теорията, че намалената функция на белия дроб в ранна детска възраст е частично генетически детерминирана¹⁶. А S2 при деца с астма заедно с ранното излагане на тютюнев дим са свързани с броя на хоспитализациите като носители на G алела се хоспитализират два



Фиг. 3. Структура на ADAM33 с гагени характеристики на по-значими SNPs



Фиг. 4. Позиция на най-често изследваните SNPs на ADAM33 – 22 екзона (сини) и нетранслируеми региони (червено)¹⁷

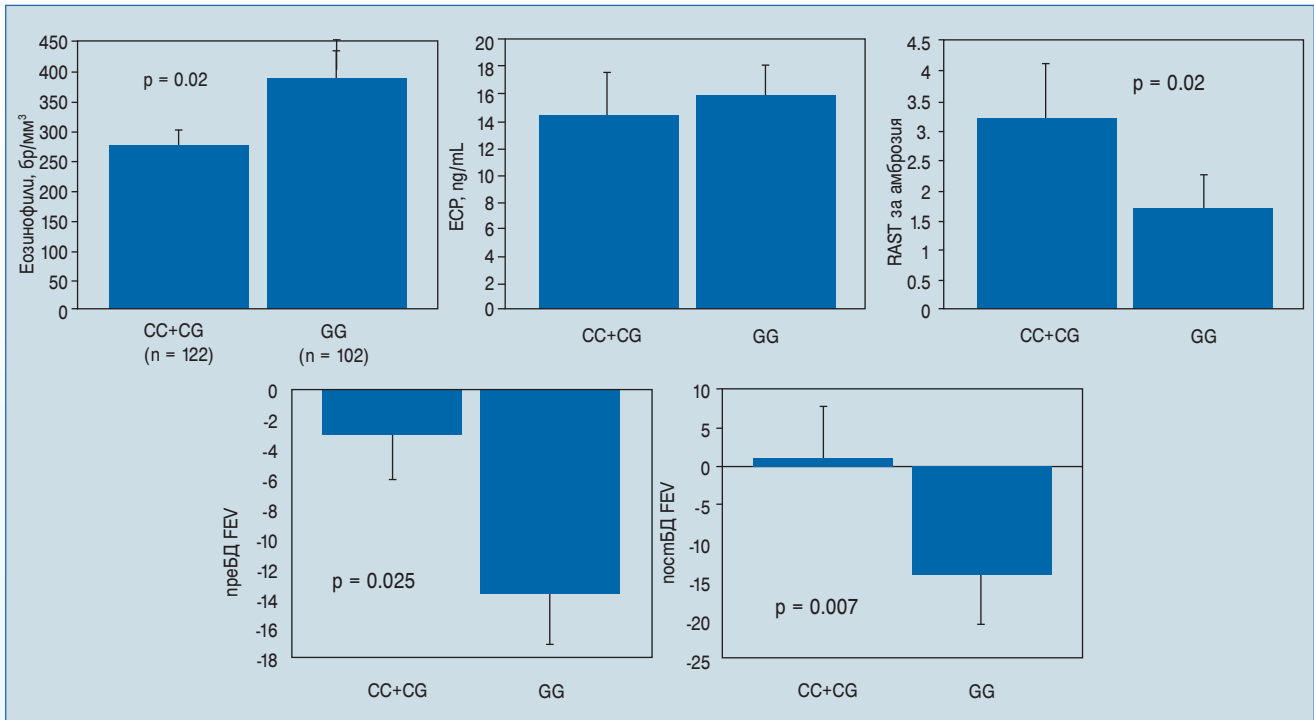
или повече пъти по-често ($p=0.002$).²

За V4 полиморфизма има и доказателства за корелация с еозинофилното възпаление, спада във функционалното изследване на дишането, както и отговор към бронходилататори (фиг. 5)¹³.

Полиморфизмите Q-1, S1, ST+4, ST+7, V-1, V4 и хаплотиповете им са асоциирани с астма в кавказките семейства, докато например в популацията от Пуерто Рико няма връзка между развитие на астма и ADAM33^{3, 10, 12, 17, 19}. В обширен мета-анализ на 11 проучвания е

доказано, че за азиатците T1 е свързан тясно с предразположение за астма, докато такава асоциация не може да се потвърди с T2 и ST+7⁹. В различните популации различни генетични комбинации са доказани да повлияват фенотиповете (фиг. 6)^{12, 14}. Различията в резултатите дават основание да се заключи, че различният генетичен произход на изследваните популации също играе съществена роля.

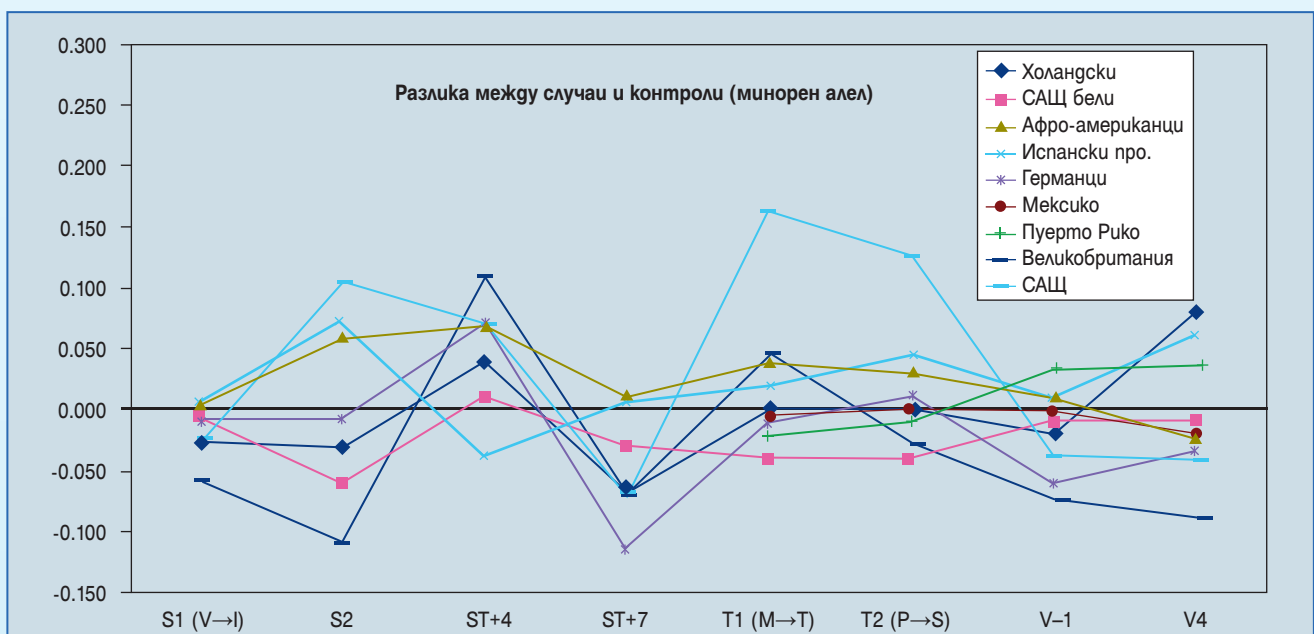
С оглед на наличната информация до момента и най-често асоциираните полиморфиз-



Фиг. 5. Протективна роля на наличие на минорния С алел при астматици по отношение на еозинофилно възпаление и спад при функционално изследване на дишането (функционалните изследвания са правени за период от поне 8 години)¹³

ми на ADAM33 с бронхиална астма (табл. 1), като се прецени връзката между тежест на клинична изява, влияние върху естествения ход и смъртност, екипът на Клиниката по педиатрия има амбициозната цел децата с бронхиална астма да се изследват генетично за определена група SNPs на ADAM33 – а именно T1, T2, V4, S2, QK1, ST7, FC1. Ще се проследят показателите на децата (функционално изследване на дишането, отговор към бронхо-

дилатор, ефект от лечение) при хоспитализация (и предходна такава), анамнестични данни, тютюнопушене на майките по време на бременността, контролиращо лечение и ниво на контрол на бронхиалната астма. За контролна група ще се използват пациенти, хоспитализирани в Клиниката по повод на друго заболяване без изразена бронхиална обструкция (напр. ларингит или пневмония) или здрави деца (след информирано съгласие).



Фиг. 6. Различна генетична характеристика при случаи с астма и контролна популация при различни етнически групи¹⁴

| Публикация | Изследвана популация/място | SNPs – асоциирани с астма |
|------------------------------------|---|--|
| Howard et al. ⁶ | Американци (черни) Американци (бели) Америкаци (испански произход) Американци (холандски произход) | S2, STC4, V4 S2, T1, T2 S2, STC4, T1, T2, VK1 S1, S2, STC7, V4 |
| Van Eerdewege et al. ¹⁹ | Великобритания САЩ Великобритания/САЩ | FC1, QK1, S1, S2, STC4, VK1, V4 I1, LK1, MC1, T1, T2, TC1 QK1, S1, STC4, STC7, VK1, V4 |
| Werner et al. ²¹ | Германия | FC1, STC4, STC5, STC7 |
| Simpson et al. ¹⁸ | Деца (холандски произход) | FC1, QK1, MC1, T1, T2, STC5, STC5, VK1 |
| Jongepier et al. ⁷ | Холандия | QK1, S2 |
| Dijkstra et al. ^{7, 12} | Япония | V4, S2, T1, T2 |
| Lee et al. ⁸ | Корея | T1 |

До момента няма такъв генетичен анализ на българската популация, като авторите се надяват това да обогати етно-генетичната световна карта на бронхиалната астма.

Литература

- Blakey J, et al. Contribution of ADAM33 polymorphisms to the population risk of asthma. – *Thorax*, 2005, 60:274–276.
- Bucovic BK, et al. Asthma severity, polymorphisms in 20p13 and their interaction with tobacco smoke exposure. – *Ped All & Immunology*, 2013, 24:10–18
- Hirota T., et al. Association between ADAM33 polymorphisms and adult asthma in the Japanese population. – *Clin Exp Allergy*, 2006, 36(7):884–891.
- Holgate ST, et al. ADAM33: a newly identified protease involved in airway remodeling. – *Pulm Pharmacol Ther*, 2006, 19(1):3–11.
- Hoffjan S, Ober C. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. – *Genes and Immunity*, 2006, 7, 95–100.
- Howard TD, et al. Association of a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) gene with asthma in ethnically diverse populations. – *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 112:717–722.
- Jongepier H, et al. Polymorphisms of the ADAM33 gene are associated with accelerated lung function decline in asthma. – *Clin Exp Allergy*, 2004, 34:757–760.
- Lee JH, et al. ADAM33 polymorphism: association with bronchial hyper-responsiveness in Korean asthmatics. – *Clin Exp Allergy*, 2004, 34:860–5.
- Lee YH, Song GG. Association between ADAM33 T1 polymorphism and susceptibility to asthma in Asians. – *Inflammation Research*, 2012, 61(12):1355–1362.
- Lind D., et al. ADAM33 Is Not Associated with Asthma in Puerto Rican or Mexican Populations. – *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 168(11):1312–1316.
- March ME, Sleiman PM, Hakonarson H. The genetics of asthma and allergic disorders. – *Discov Med*, 2011, 11(56):35–45.
- Noguchi E, et al. ADAM33 polymorphisms are associated with asthma susceptibility in a Japanese population. *Clin Exp Allergy* 2006; 36(5):602–08
- Petrova G, et al. Association between ADAM33 polymorphisms and asthma control. – *Eur Resp Journal*, 2013, Vol 42, S57, 298s.
- Postma DS, Howard T. ADAM33 gene: confirming a gene without linkage. – *Clin Exp Allergy*, 2004, 34:1–3.
- Primakoff P, Myles DG. The ADAM gene family: surface proteins with adhesion and protease activity. – *Trends Genet*, 2000, 16:83–7.
- Raby BA, et al. ADAM33 polymorphisms and phenotype associations in childhood asthma. – *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 113:1071–1078.
- Shedel M, et al. The role of polymorphisms in ADAM33, a disintegrin and metalloprotease 33, in childhood asthma and lung function in two German populations. – *Respir Res*, 2006, Jun 19; 7:91.
- Simpson A, et al. Polymorphisms in a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) predict impaired early-life lung function. – *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172:55–60.
- van Diemen CC, et al. A disintegrin and metalloprotease 33 polymorphisms and lung function decline in the general population. – *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172:329–333.
- van Eerdewege P, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. – *Nature*, 2002, 418, 426–430.
- Werner M, et al. Asthma is associated with single-nucleotide polymorphisms in ADAM33. – *Clin Exp Allergy*, 2004, 34:26–31.
- Yoshinaka T, et al. Identification and characterization of novel mouse and human ADAM33s with potential metalloprotease activity. – *Gene*, 2002, 282:227–36.