

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Генетические маркеры бронхиальной астмы у детей: предрасположенность к вариантам течения заболевания

М.В. Смольникова , Э.В. Каспаров, М.А. Малинчик, К.В. Копылова

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

 smarinv@yandex.ru

Аннотация. Астма – хроническое гетерогенное и часто трудно поддающееся лечению состояние, приводящее к несоразмерным расходам системы здравоохранения. Дети с тяжелой астмой подвержены повышенному риску неблагоприятных исходов, включая побочные эффекты, связанные с приемом лекарств, угрожающие жизни обострения и ухудшение качества жизни. Важным терапевтическим акцентом является достижение контроля над заболеванием, что подразумевает персонализированный подход к лечению при любой степени тяжести астмы. Астма относится к мультифакториальным заболеваниям, имеющим значимую генетическую детерминанту, однако наследование астмы на сегодняшний день полностью не объяснено. В развитии разных форм заболевания особую роль играют полиморфные гены медиаторов воспаления, в том числе цитокинов. В настоящем исследовании впервые получены масштабные данные о распределении генотипов генов цитокинов (*IL2*, *IL4*, *IL5*, *IL6*, *IL10*, *IL12*, *IL13*, *IL17A*, *IL31*, *IL33*, *IFNG*, *TNFA*) среди больных астмой русских детей Красноярского края. Генотипирование осуществлено с использованием метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). В ходе исследования нами выявлены маркеры, предрасполагающие к развитию различных вариантов течения астмы у детей: генотип СТ и аллель Т rs2243250 *IL4* ассоциированы с развитием астмы ($p < 0.05$), особенно при легкой форме и контролируемом течении. Генотип ТТ и аллель Т rs1800925 *IL13* ассоциированы с астмой, в том числе тяжелой степени, и с неконтролируемой формой ($p < 0.05$). Установлено, что генотипы АА *IL17A* rs2275913, ТТ *IFNG* rs2069705 и аллельный вариант А *TNFA* rs1800629 ассоциированы с легкой степенью астмы, генотип ТТ *IFNG* rs2069705 ассоциирован также с контролируемой формой. Полученные результаты дополняют данные о характеристике распределения полиморфных вариантов генов цитокинов в русской популяции и у больных астмой с различным течением заболевания, что можно будет использовать для формирования планов органов практического здравоохранения в отношении профилактики развития тяжелой неконтролируемой астмы и в целях оптимизации персонализированной терапии. Ключевые слова: бронхиальная астма; цитокин; полиморфизм генов; дети; степень тяжести астмы; уровень контроля.

Для цитирования: Смольникова М.В., Каспаров Э.В., Малинчик М.А., Копылова К.В. Генетические маркеры бронхиальной астмы у детей: предрасположенность к вариантам течения заболевания. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(4):393-400. DOI 10.18699/VJGB-23-47

Genetic markers of children asthma: predisposition to disease course variants

M.V. Smolnikova , Ed.W. Kasparov, M.A. Malinchik, K.V. Kopylova

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center” of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia

 smarinv@yandex.ru

Abstract. Asthma is a heterogeneous and often difficult to treat condition that results in a disproportionate cost to healthcare systems. Children with severe asthma are at increased risk for adverse outcomes including medication-related side effects, life-threatening exacerbations, and impaired quality of life. An important therapeutic focus is to achieve disease control, which is supposed to involve a personalized approach to treatment of asthma of any severity. Asthma is a multifactorial disease with a significant genetic determinant, however, the inheritance of asthma has not been fully elucidated. Polymorphic genes of inflammatory mediators, including cytokines, play an important role in developing various disease forms. In the current study, large-scale original data on the prevalence of cytokine gene genotypes (*IL2*, *IL4*, *IL5*, *IL6*, *IL10*, *IL12*, *IL13*, *IL17A*, *IL31*, *IL33*, *IFNG*, *TNFA*) among Russian children with asthma in Krasnoyarsk region have been obtained. Genotyping was carried out using real-time PCR. We identified markers predisposing to the development of different variants of the course of childhood asthma: the CT genotype and T allele of *IL4* rs2243250 are associated with asthma ($p < 0.05$), especially in mild asthma and in controlled asthma. The TT genotype and allele T of *IL13* rs1800925 are associated with severe and uncontrolled asthma ($p < 0.05$). The AA genotype of *IL17A* rs2275913, the TT genotype of *IFNG* rs2069705 and allelic A variants of *TNFA* rs1800629 are associated with mild

asthma, and the TT genotype of *IFNG* rs2069705 is additionally associated with controlled asthma. The results obtained will supplement information on the prevalence of polymorphic variants of the cytokine genes in the Russian population and in asthma patients with different disease courses, which is likely to be used in order to shape a plan for Public Health Authority to prevent the development of severe uncontrolled asthma and to optimize personalized therapy.

Key words: asthma; cytokine; gene polymorphism; child; asthma severity; level of diseases control.

For citation: Smolnikova M.V., Kasparov Ed.W., Malinchik M.A., Kopylova K.V. Genetic markers of children asthma: predisposition to disease course variants. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(4):393-400. DOI 10.18699/VJGB-23-47

Введение

Одно из самых распространенных заболеваний нижних дыхательных путей – бронхиальная астма (БА), гетерогенное заболевание, характеризующееся воспалением и гиперреактивностью дыхательных путей. Астма чаще всего начинается в раннем детстве, имеет переменное течение, нестабильный фенотип, который со временем может прогрессировать (Nancox et al., 2012). В случае тяжелого и неконтролируемого течения заболевание значительно ограничивает и ухудшает качество жизни человека. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире БА приводит к потере 26.2 млн DALY (disability-adjusted life year – показатель, отражающий число лет жизни, потерянных в связи с нетрудоспособностью), что составляет 1 % от общего всемирного ущерба в результате болезней (GBD 2015 Chronic Respiratory Disease Collaborators..., 2017). На сегодняшний день БА является глобальной проблемой здравоохранения, имеющей большую социально-экономическую значимость: около 339 млн человек во всем мире страдают астмой. На увеличение распространенности и заболеваемости астмой во всем мире влияют как генетический фон, так и воздействие большого количества факторов окружающей среды, многие из которых включены в понятие «современный образ жизни». Кроме этого, распространенность, тяжесть и смертность от астмы сильно различаются по этногеографической принадлежности.

По оценкам экспертов, число пациентов с астмой в России превосходит официальные данные, по их расчетам, от астмы в нашей стране страдает 5.9 млн человек вместо 1.3 млн, согласно отчетным данным, кроме того, поскольку астма – инвалидизирующее и опасное заболевание, около 41 % пациентов с астмой получают пенсию по инвалидности. Распространенность заболевания среди взрослых составляет 6–7 %, а среди детей и подростков – 8–10 %, что превосходит частоту встречаемости сердечно-сосудистых заболеваний, рака молочной железы и ВИЧ-инфекции (Chuchalin et al., 2014). По данным 2020 г., в Красноярском крае зафиксировано более 42.5 тыс. человек, больных БА, включая и взрослых, и детей. Отмечается, что распространенность заболевания среди детей-подростков постоянно растет.

Выделяют ряд фенотипов и эндотипов астмы. Классификация астмы заключается в группировании пациентов на основании наблюдаемых комбинаций клинических, биологических и физиологических характеристик в так называемые фенотипы. Проще говоря, фенотипы определяются как «наблюдаемые характеристики, являющиеся результатом сочетания наследственных и экологических влияний» (Wenzel, 2012). Важно отметить, что со време-

нем фенотип БА может меняться, причиной этого служат факторы окружающей среды, аллергены, сезонные изменения, экологические факторы, инфекции органов дыхания, терапия ИГКС (ингаляционные глюкокортикостероиды) и т. д. Бронхиальную астму классифицируют согласно глобальной инициативе по борьбе с астмой (Global Initiative for Asthma, GINA), а также по степени тяжести и уровню контроля.

Тяжесть заболевания связана с интенсивностью патологического процесса, и установить правильно ее степень возможно до начала лечения, поскольку при эффективной терапии симптомы заболевания уменьшаются. В соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA выделяют следующие степени тяжести бронхиальной астмы: интермиттирующая, легкая персистирующая, средней тяжести персистирующая, тяжелая персистирующая. Уровень контроля заболевания – степень контроля симптомов и функциональных ограничений, а также минимизация рисков обострения астмы, предотвращения ухудшения функции легких при помощи медикаментозного лечения. Целью для пациентов является наличие хорошо контролируемой астмы, независимо от тяжести заболевания. По степени контроля она классифицируется на контролируемую и неконтролируемую.

Важная характеристика астмы – многофакторность этого заболевания, в патогенезе развития которого сочетаются как генетические факторы, так и воздействие факторов окружающей среды. Внешние факторы многочисленны и отвечают за активацию манифестации бронхиальной астмы или вызывают ее обострение. Наиболее значимую роль играют внутренние особенности индивида. К внутренним (врожденным) факторам относят генетическую предрасположенность, пол и расовую (этническую) принадлежность. Важная роль наследственности в возникновении БА подтверждена семейными, близнецовыми и генетико-эпидемиологическими исследованиями (Thomsen, 2014).

Генетическая составляющая заболевания обеспечивается совокупным действием различных групп генов. Один и тот же фенотип БА у разных индивидов может быть результатом «поломки» различных генов; у каждого отдельного индивида развитие болезни может являться следствием мутации сразу нескольких генов. Кроме того, наследственные факторы определяют не только возможность формирования заболевания, но и его тяжесть, ответ на терапию и т. д.

Воспаление дыхательных путей, лежащее в основе БА, обусловлено в том числе так называемой цитокиновой сетью – саморегулирующейся системой, при нарушении ее функциональности происходит избыточная или недостаточная продукция различных цитокинов, что, в свою

очередь, приводит к развитию патологических процессов. Известно более 50 цитокинов, участвующих в иммунопатогенезе данного заболевания, при этом роль каждого из них изучена не до конца. Во время приступа БА в сыроворотке можно обнаружить значительно более высокие уровни таких цитокинов, как GM-CSF, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-8, IL-18, TNF- α .

Известно, что полиморфизм генов обуславливает различия в экспрессии и уровне продукции белка. В настоящее время выявлено огромное количество полиморфных участков в генах ряда цитокинов и их рецепторов. Несмотря на достигнутые успехи в изучении иммунопатогенеза астмы, все еще не существует единого мнения о патогенетической роли полиморфных вариантов генов цитокинов в отношении развития астмы и ее фенотипов, что указывает на необходимость продолжения исследований в этом направлении. Кроме этого, в результатах исследований на разных популяциях мира все еще существуют противоречия, поскольку распределение частоты полиморфных вариантов генов, в том числе генов цитокинов, имеет свои особенности, в зависимости от этногеографических характеристик (Пузырев и др., 2007). Поэтому проведение сравнительного анализа генетических показателей в отдельно взятой популяции с целью определения факторов риска развития фенотипов астмы является актуальным.

Таким образом, бронхиальная астма – предмет исследований, направленных на изучение механизмов патогенеза этого заболевания, роли различных медиаторов (в число которых входят цитокины), подходов к лечению, а также генетической детерминанты.

Цель работы – выявление маркеров развития различных фенотипов бронхиальной астмы у русских детей Красноярского края.

Материалы и методы

Объектом изучения были больные бронхиальной астмой ($n = 317$) и практически здоровые дети (контрольная группа, $n = 229$), сопоставимые по полу, возрасту и расовой принадлежности. Критерии включения больных в исследование – установленный диагноз бронхиальной астмы, возраст от 8 до 18 лет, стаж бронхиальной астмы более одного года, оба родителя ребенка русские. Критерии исключения из исследования – наличие сопутствующих декомпенсированных заболеваний. Критерии включения в группу контроля – отсутствие аллергопатологий и бронхолегочных заболеваний, возраст от 6 до 18 лет, оба родителя ребенка русские.

В зависимости от степени тяжести заболевания, определяемой в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA (Global Initiative for Asthma, дополненная, 2018 и 2021), были выделены группы: интермиттирующая, персистирующая легкая, персистирующая средней тяжести и персистирующая тяжелая. В ходе работы нами были объединены группы пациентов со следующими степенями тяжести: интермиттирующая БА и персистирующая легкая в группу «легкая степень» астмы ($n = 131$), персистирующая средней тяжести и персистирующая тяжелая в группу «тяжелая степень» заболевания ($n = 186$) ввиду малочисленности некоторых групп. В зависимости от уровня контроля заболевания, определяемого на основа-

нии результатов теста по контролю над астмой у детей (C-ACT, asthma control test), были выделены группы: контролируемая астма – 20 и больше баллов ($n = 171$), и неконтролируемая астма – менее 19 баллов ($n = 146$).

Работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации о проведении исследований у людей и животных. Исследования одобрены на заседании локального этического комитета Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера (НИИ МПС) (Протокол № 12 от 10.12.2013). Протокол обследования больных и практически здоровых детей (контрольная группа) соответствовал этическим стандартам и был разрешен комитетом по биомедицинской этике НИИ МПС. Право на проведение обследования юридически закреплялось информированным письменным согласием родителя.

Выделение ДНК из венозной крови проводили при использовании набора реагентов D1Atom™ DNA Prep100 («Изоген», Россия). Генотипирование осуществляли с применением метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) при помощи специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно меченых зондов по протоколу производителя («ДНК-Синтез», Россия) и прибора Rotor-Gene Q 6 plex (QIAGEN, Германия).

Сравнение частоты аллелей и генотипов между группами выполняли с помощью онлайн-калькулятора <https://medstatistic.ru/>. Для оценки связи признака (генотип) с заболеванием в группах больных и практически здоровых детей использовали критерий χ^2 . Пороговый уровень значимости был принят равным 0.05. В качестве оценки степени ассоциации генетических маркеров с признаками использовали величину отношения шансов (OR) с расчетом 95 % доверительного интервала (CI).

Результаты

С целью выявления генетических маркеров бронхиальной астмы проведен сравнительный анализ частоты одонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) между больными астмой и детьми контрольной группы. В результате сравнения частот аллелей и генотипов между когортой больных БА и контролем были обнаружены статистически значимые отличия в распределении SNP промоторных регионов *IL4* rs2243250 и *IL13* rs1800925 (табл. 1).

Выявлено преобладание аллеля Т *IL4* rs2243250 в группе больных БА относительно контроля (28 % против 23.5 %, $p = 0.05$); частота гетерозиготного генотипа СТ *IL4* rs2243250 также статистически значимо выше у больных астмой по сравнению с контролем ($p = 0.006$). Частоты генотипа ТТ и аллеля Т rs1800925 *IL13* значимо выше в группе больных БА относительно группы контроля ($p < 0.05$).

Для детального изучения ассоциации аллельных вариантов генов цитокинов с особенностями развития БА проведено сравнение частот их генотипов и аллелей в группе больных астмой в зависимости от степени тяжести и уровня контроля БА (табл. 2 и 3).

В результате анализа распределения *IL4* rs2243250 и rs1800925 *IL13* в зависимости от степени тяжести астмы отмечена высокая частота генотипов СТ *IL4* rs2243250 и ТТ rs1800925 *IL13* в группе с тяжелой БА относительно

Таблица 1. Распределение частот генотипов и аллелей SNP у пациентов с астмой и в группе контроля и БА, % (n)

Генотип/ аллель	Контроль	БА	OR (CI)	p	Генотип/ аллель	Контроль	БА	OR (CI)	p
<i>IL2</i> rs2069762					<i>IL13</i> rs1800925				
TT	38.3 (88)	45.2 (143)	1.33 (0.94–1.88)	0.103	CC	56.3 (129)	42.2 (134)	0.57 (0.40–0.80)	0.002
TG	46.9 (108)	41.8 (132)	0.81 (0.58–1.14)	0.229	CT	38.0 (87)	46.1 (146)	1.39 (0.99–1.97)	0.061
GG	14.8 (34)	13.0 (41)	0.86 (0.53–1.40)	0.545	TT	5.7 (13)	11.7 (37)	2.20 (1.14–4.23)	0.017
G	38.3 (176)	33.9 (214)	0.83 (0.64–1.06)	0.135	T	24.7 (113)	34.7 (220)	1.62 (1.24–2.12)	< 0.001
<i>IL4</i> rs2243250					<i>IL17A</i> rs2275913				
CC	61.3 (141)	50.9 (161)	0.66 (0.46–0.93)	0.017	GG	41.5 (95)	38.4 (122)	0.88 (0.62–1.24)	0.462
CT	30.4 (70)	42.1 (133)	1.66 (1.16–2.38)	0.006	GA	45.4 (104)	42.4 (135)	0.89 (0.63–1.25)	0.491
TT	8.3 (19)	7.0 (22)	0.83 (0.44–1.57)	0.570	AA	13.1 (30)	19.2 (61)	1.57 (0.98–2.53)	0.060
T	23.5 (108)	28.0 (177)	1.41 (1.00–1.98)	0.050	A	35.8 (164)	40.4 (257)	1.22 (0.95–1.56)	0.123
<i>IL5</i> rs2069812					<i>IL31</i> rs7977932				
CC	45.2 (104)	42.4 (134)	0.89 (0.63–1.26)	0.513	CC	63.8 (146)	64.1 (202)	1.02 (0.71–1.45)	0.929
CT	46.1 (106)	48.4 (153)	1.09 (0.78–1.54)	0.591	CG	30.1 (69)	31.8 (100)	1.08 (0.75–1.56)	0.688
TT	8.7 (20)	9.2 (29)	1.06 (0.58–1.93)	0.846	GG	6.1 (14)	4.1 (13)	0.66 (0.30–1.43)	0.293
T	31.7 (146)	33.4 (211)	1.08 (0.83–1.39)	0.567	G	21.2 (97)	20.0 (126)	0.93 (0.69–1.25)	0.635
<i>IL6</i> rs1800795					<i>IL33</i> rs7044343				
GG	31.9 (73)	33.7 (106)	1.08 (0.75–1.56)	0.664	TT	32.8 (75)	29.4 (93)	0.86 (0.59–1.24)	0.408
CG	43.7 (100)	47.6 (150)	1.17 (0.83–1.65)	0.362	CT	53.7 (123)	56.0 (177)	1.10 (0.78–1.54)	0.595
CC	24.4 (56)	18.7 (59)	0.71 (0.47–1.08)	0.107	CC	13.5 (31)	14.6 (46)	1.09 (0.67–1.78)	0.736
G	53.7 (246)	57.5 (362)	1.16 (0.91–1.48)	0.219	T	59.6 (273)	57.4 (363)	0.91 (0.72–1.17)	0.474
<i>IL10</i> rs1800872					<i>IFNG</i> rs2069705				
CC	55.7 (128)	59.8 (189)	1.19 (0.84–1.67)	0.331	TT	28.3 (65)	33.9 (108)	1.32 (0.91–1.88)	0.143
CA	36.9 (85)	35.1 (111)	0.92 (0.65–1.31)	0.660	TC	51.3 (118)	46.5 (147)	0.90 (0.64–1.27)	0.270
AA	7.4 (17)	5.1 (16)	0.67 (0.33–1.35)	0.260	CC	20.4 (47)	19.6 (61)	0.95 (0.62–1.45)	0.744
A	25.9 (119)	22.6 (143)	0.84 (0.63–1.11)	0.216	C	46.1 (212)	42.6 (269)	0.93 (0.61–1.42)	0.293
<i>IL12B</i> rs3212220					<i>TNFA</i> rs1800629				
GG	57.2 (131)	65.1 (205)	1.39 (0.98–1.98)	0.063	GG	80.9 (186)	75.2 (231)	0.72 (0.47–1.09)	0.122
GT	37.6 (86)	29.8 (94)	0.71 (0.49–1.01)	0.127	GA	16.9 (39)	21.2 (65)	1.31 (0.85–2.04)	0.222
TT	5.2 (12)	5.1 (16)	0.97 (0.45–2.09)	0.934	AA	2.2 (5)	3.6 (11)	1.67 (0.57–4.88)	0.342
T	24.0 (110)	20.0 (126)	0.79 (0.59–1.06)	0.113	A	10.7 (49)	14.2 (87)	1.38 (0.95–2.01)	0.087

контрольной группы, а для генотипа CT *IL4* rs2243250 – и в группе детей с легкой степенью БА ($p < 0.05$). Анализ частот аллелей данных полиморфных вариантов генов выявил значимые различия в частоте редкого аллеля T *IL4* rs2243250 и T rs1800925 *IL13* у детей с легкой и тяжелой степенью астмы (в случае rs1800925) по сравнению со здоровыми детьми ($p < 0.05$).

Анализ частоты генотипов и аллелей *IL17A* rs2275913, *IFNG* rs2069705 и *TNFA* rs1800629 показал, что гомозиготы AA rs2275913 ($p = 0.01$), TT rs2069705 ($p = 0.03$) и аллельный вариант A *TNFA* rs1800629 значимо чаще встречаются в группе детей с легкой степенью астмы относительно группы контроля.

В результате анализа распределения *IL4* rs2243250 и rs1800925 *IL13* в зависимости от уровня контроля астмы показано, что генотипы CT *IL4* rs2243250 и TT rs1800925

IL13 чаще встречаются в группе с неконтролируемым течением БА относительно контрольной группы ($p < 0.05$). Генотип CT *IL4* rs2243250 значимо чаще встречается также и у больных с контролируемой астмой по сравнению с контролем. Анализ частот аллелей выявил различия в частоте редкого аллеля T rs1800925 *IL13* между группами детей с контролируемым и неконтролируемым течением астмы и здоровыми детьми ($p < 0.05$). При сравнении частоты генотипов *IFNG* rs2069705 установлено, что частота встречаемости гомозиготного генотипа TT значимо выше в группе детей с контролируемой астмой относительно группы контроля ($p < 0.05$).

Обсуждение

Поскольку регуляция воспалительного процесса при БА осуществляется с помощью медиаторов – цитокинов, важ-

Таблица 2. Распределение частот генотипов и аллелей SNP в группах БА в зависимости от степени тяжести, % (n)

Генотип/аллель	Контроль (1)	Легкая БА (2)	Тяжелая БА (3)	OR (CI)	p
<i>IL4 rs2243250</i>					
CC	61.3 (141)	48.1 (63)	53.0 (98)	1.2 = 0.59 (0.38–0.90)	1.2 = 0.015
CT	30.4 (70)	43.5 (57)	41.1 (76)	1.2 = 1.76 (1.13–2.75) 1.3 = 1.59 (1.06–2.39)	1.2 = 0.013 1.3 = 0.024
T	23.5 (108)	30.2 (79)	26.5 (98)	1.2 = 1.41 (1.00–1.98)	1.2 = 0.050
<i>IL6 rs1800795</i>					
CC	24.5 (56)	13.6 (18)	22.4 (41)	1.2 = 0.49 (0.27–0.87)	1.2 = 0.015
<i>IL13 rs1800925</i>					
CC	56.3 (129)	43.6 (58)	41.3 (76)	1.2 = 0.60 (0.39–0.92) 1.3 = 0.55 (0.37–0.81)	1.2 = 0.020 1.3 = 0.003
TT	5.7 (13)	11.3 (15)	12.0 (22)	1.3 = 2.26 (1.10–4.61)	1.3 = 0.023
T	24.7 (113)	33.8 (90)	35.3 (130)	1.2 = 1.56 (1.12–2.17) 1.3 = 1.67 (1.23–2.25)	1.2 = 0.010 1.3 < 0.001
<i>IL17A rs2275913</i>					
AA	13.1 (30)	23.7 (31)	16.2 (30)	1.2 = 2.06 (1.18–3.59)	1.2 = 0.011
<i>IFNG rs2069705</i>					
TT	28.3 (65)	38.9 (51)	30.3 (56)	1.2 = 1.62 (1.03–2.55)	1.2 = 0.037
<i>TNFA rs1800629</i>					
GG	80.9 (186)	71.4 (90)	77.9 (141)	1.2 = 0.59 (0.36–0.98)	1.2 = 0.042
A	10.7 (49)	16.7 (42)	12.4 (45)	1.2 = 1.68 (1.08–2.62)	1.2 = 0.022

Примечание. Показаны генотипы и аллели, разница частот которых между группами сравнения $p \leq 0.05$.

Таблица 3. Распределение частот генотипов и аллелей SNP в группах БА в зависимости от уровня контроля, % (n)

Генотип/ аллель	Контроль (1)	Контролируемая БА (2)	Неконтролируемая БА (3)	OR (CI)	p
<i>IL4 rs2243250</i>					
CC	61.3 (141)	51.2 (87)	50.7 (74)	1.2 = 0.66 (0.44–0.99) 1.3 = 0.65 (0.43–0.99)	1.2 = 0.044 1.3 = 0.043
CT	30.4 (70)	43.5 (74)	40.4 (59)	1.2 = 1.76 (1.16–2.66) 1.3 = 1.55 (1.00–2.39)	1.2 = 0.007 1.3 = 0.048
<i>IL6 rs1800795</i>					
CC	24.5 (56)	16.5 (28)	21.4 (31)	1.2 = 0.61 (0.37–1.01)	1.2 = 0.054
<i>IL12B rs3212220</i>					
T	24.0 (110)	22.1 (75)	17.6 (51)	1.3 = 0.67 (0.47–0.98)	1.3 = 0.038
<i>IL13 rs1800925</i>					
CC	56.3 (129)	43.9 (75)	40.4 (59)	1.2 = 0.61 (0.41–0.90) 1.3 = 0.53 (0.34–0.80)	1.2 = 0.014 1.3 = 0.003
TT	5.7 (13)	10.5 (18)	13.0 (19)	1.3 = 2.49 (1.19–5.20)	1.3 = 0.014
T	24.7 (113)	33.3 (114)	36.3 (106)	1.2 = 1.53 (1.12–2.08) 1.3 = 1.74 (1.26–2.39)	1.2 = 0.008 1.3 < 0.001
<i>IFNG rs2069705</i>					
TT	28.3 (65)	37.7 (64)	30.1 (44)	1.2 = 1.53 (1.00–2.34)	1.2 = 0.048

Примечание. Показаны SNP, разница частот которых между группами сравнения $p \leq 0.05$.

но изучать механизмы нарушения их функциональности. Генетический полиморфизм цитокиновой сети влияет на уровень концентрации цитокинов в сыворотке крови, что, в свою очередь, оказывает эффект на формирование характера течения БА. К 2022 г. в отношении бронхиальной астмы исследовано около 1500 генов, в том числе цитокинов и их рецепторов (согласно системе Phenopedia). Необходи-

мо отметить, что влияние разных генов на формирование генетической предрасположенности к астме существенно различается в разных популяциях, т. е. имеет этногеографические особенности. Соответственно, некоторые из исследований имеют противоречивые данные о роли генетических факторов в патогенезе астмы. В результате проекта «1000 геномов» (<http://www.1000genomes.org>) по-

лучены данные по целому ряду SNP в генах, в том числе промоторных, экзонах и интронных областях. Тем не менее полиморфных вариантов, являющихся функциональными (влияющими на функции или структуру белка), немного, а их вклад в патологию БА неоднозначен.

В ходе нашего исследования у русских детей, проживающих на территории Красноярского края, были изучены частоты аллелей и генотипов SNP ключевых цитокинов, продуцируемых разными типами клеток иммунной системы и участвующих в воспалительных реакциях при заболеваниях. Нами найдены значимые отличия в частоте распределения полиморфных вариантов генов цитокинов между больными БА и контрольной группой, что позволило выделить генетические маркеры, являющиеся предполагаемыми факторами риска развития астмы: гетерозиготный генотип СТ и аллель T rs2243250 *IL4*, гомозиготный вариант ТТ и аллель T rs1800925 *IL13*.

Как сказано выше, наибольшее значение имеют прогнозирование динамики развития заболевания, эффективности лечения, достижение контролируемого течения, предотвращение развития тяжелой формы астмы, а также оказание персонализированной терапии и профилактики БА.

С целью поиска генетических маркеров разных форм БА нами проведен анализ распределения SNP генов цитокинов у больных с разной тяжестью и контролем заболевания. Выявлено, что генотип СТ и аллель T *IL4* rs2243250 ассоциированы с легкой БА, генотип СТ *IL4* rs2243250 – и с тяжелой; кроме этого, генотип ТТ rs1800925 *IL13* ассоциирован с тяжелой БА, аллель T rs1800925 *IL13* ассоциирован с легкой и тяжелой формами БА. Обнаружены также маркеры, предрасполагающие к формам астмы в зависимости от контроля: генотип СТ *IL4* rs2243250 и аллель T rs1800925 *IL13* ассоциированы с контролируемым и неконтролируемым течением БА; генотип ТТ rs1800925 *IL13* ассоциирован с неконтролируемой астмой.

Гены *IL4* и *IL13* локализованы в одном кластере хромосомы 5q31.1 и кодируют цитокины, играющие ключевую роль в патогенезе БА: IL-4 и IL-13 способствуют эозинофилии дыхательных путей, гиперпродукции слизи, бронхиальной гиперреактивности и синтезу IgE (Zhang et al., 2015). Однонуклеотидная замена rs2243250 в промоторе *IL4* ассоциирована с увеличенной экспрессией и продукцией IL-4, а SNP *IL13* rs1800925 способствует повышению экспрессии IL-13 в Th2-клетках. Отмечается, что больные астмой, у которых наблюдался повышенный уровень IgE, имеют гомозиготный генотип по редкому аллелю rs2243250 *IL4*. Полученные нами данные в результате анализа распределения частот генотипов и аллелей rs2243250 и rs1800925 у детей Красноярска согласуются с результатами ряда работ других ученых.

Ранее установлено, что генотип СТ rs2243250 *IL4* преобладает в группе русских детей с атопической бронхиальной астмой, а также выявлено, что у больных астмой арабов, имеющих данный генотип, наиболее высокая частота встречаемости экземы по сравнению с больными, имеющими генотип ТТ (Hijazi, Haider, 2000; Smirnova et al., 2018). В группе детей с БА показана повышенная, по сравнению со здоровыми, частота встречаемости генотипов ТС и ТТ полиморфизма *IL4* (C-590T) (rs2243250)

(Просекова и др., 2020). W. Nie с коллегами, проведя мета-анализ, включающий 40 исследований, заключили, что модель СТ vs. СС значимо связана с повышенным риском развития астмы, кроме того, при анализе по этническому признаку значимые ассоциации обнаружены у азиатов и европеоидов, но не у афроамериканцев (Nie et al., 2013). Однако в некоторых работах получены иные результаты, так, анализ ассоциированных с БА генотипов по C-589T гена *IL4* не выявил статистически значимых различий между контрольной группой и группой больных БА, что может быть связано с малочисленностью исследованных выборок (Руденко и др., 2021). А в метаанализе, проведенном китайскими учеными, говорится о том, что редкий аллель является слабым фактором риска развития атопической БА у европеоидов (Liu et al., 2012).

Z. Liu с коллегами (2014) показали, что генотипы СТ и ТТ *IL13* rs1800925 встречались чаще в группе больных БА. Ученые из Малазии установили, что процент минорного аллеля T у пациентов с БА превышает частоту встречаемости того же аллеля в контроле, являясь фактором риска развития данной патологии (Radhakrishnan et al., 2013). Однако результаты исследования на популяции детей Коста-Рики продемонстрировали, что аллель T rs1800925 способствовал прогрессированию астмы только у детей, принимающих кортикостероиды, и не ассоциирован с риском развития заболевания (Hunninghake et al., 2007).

В результате метаанализа установлено, что мутация rs1800925 связана с повышенным риском развития астмы только у населения европеоидной расы, и не ассоциирована с предрасположенностью к астме у азиатов (Omranipava et al., 2020).

Встречаются также противоречащие данные, вероятно, связанные с малочисленностью исследованной выборки, например анализ распределения аллелей и генотипов варианта rs1800925 гена *IL13* не выявил статистически достоверных различий между контрольной группой и группой больных БА, однако наблюдалась тенденция к увеличению доли аллеля С в группе больных бронхиальной астмой (Кутлина и др., 2018). Тем не менее показано, что в Республике Башкортостан полиморфные варианты генов цитокинов *TNFA*, *IL4* и *IL13* вносят вклад в формирование генетической предрасположенности к БА (Карунас и др., 2012).

В ходе работы нами также установлено, что генотип АА *IL17A* rs2275913, генотип ТТ *IFNG* rs2069705 и аллель А *TNFA* rs1800629 ассоциированы с легкой степенью БА, а генотип ТТ *IFNG* rs2069705 ассоциирован также с контролируемой БА.

Доступные литературные данные об ассоциации *IL17A* rs2275913, локализованного в промоторной области, с уровнем экспрессии и активности цитокина IL-17A весьма противоречивы. Так, Н. Maalmi с коллегами отметили ассоциацию между этим SNP и восприимчивостью к БА у детей: у пациентов с генотипом GG наблюдаются астма легкой и средней степени тяжести и низкие уровни IL-17A (Maalmi et al., 2014). Сообщалось, что аллель А rs2275913 усиливает активность промотора *IL17A* и способствует его транскрипции, приводя к усилению воспаления в дыхательных путях (Espinoza et al., 2011). Однако в другой работе не удалось найти связь между *IL17A* rs2275913

и риском развития астмы (Wang et al., 2011), а J. Chen с коллегами показали, что rs2275913 не влияет на уровень экспрессии IL-17A в мононуклеарных клетках периферической крови (Chen et al., 2010). Один из анализов с учетом этнической принадлежности показал, что аллель G rs2275913 *IL17A* служит защитным фактором против астмы у азиатов, а у африканцев не обнаружено никакой связи (Zhai et al., 2018).

Известно, что один из ключевых Th1-цитокинов – это IFN- γ , участвующий в регуляции многих особенностей патогенеза астмы, включая подавление высвобождения цитокинов Th2-профиля, ингибирование рекрутирования эффекторных клеток в очаг воспаления, индукцию апоптоза Т-клеток, эозинофилов и др. Несмотря на это, в настоящее время имеется ограниченное количество исследований, в которых изучена роль полиморфных вариантов в этом гене в патогенезе астмы. Установлено, что мутация G-238A в гене *TNFA* снижает риск развития БА, тогда как SNP G-308A (rs1800629), напротив, ассоциирован с развитием астмы и повышением уровня продукции TNF- α (Zedan et al., 2008). Также было показано, что аллель A rs1800629 связан с повышенной транскрипцией *TNFA* по сравнению с аллелем G, а его частота значительно различается между этническими группами и редко встречается у японцев (менее 3 %) (Wilson et al., 1997).

В работе томских ученых, много лет изучающих патогенетику астмы, установлена ассоциация полиморфного варианта гена *TNFA* (rs1800629) с развитием астмы: генотип AA чаще регистрировали в группе больных по сравнению с контрольной группой (Жалсанова и др., 2020). Результаты этих и ряда других исследовательских работ указывают на необходимость анализа, в зависимости от этнодемографических особенностей. Только в этом случае полученные маркеры характера течения заболеваний можно использовать в качестве прогностических.

Некоторые исследователи выделяют не только генетические маркеры риска развития заболевания либо его формы, но и протективные маркеры. В нашем исследовании продемонстрировано, что генотипы CC *IL4* rs2243250, *IL6* rs1800795, *IL13* rs1800925, а также генотип GG *TNFA* rs1800629 являются протективными в отношении развития легкой степени астмы. Определено также, что генотипы CC *IL4* rs2243250, *IL6* rs1800795, *IL13* rs1800925 и аллельный вариант T *IL12B* rs3212220 могут считаться потенциально протективными для развития неконтролируемого течения астмы.

Заключение

Таким образом, данные о распространенности генетических вариантов, полученные нами и другими учеными, указывают на то, что функциональные SNP в генах цитокинов ассоциированы с астмой и различными вариантами течения заболевания не только у взрослых, но и у детей. Однако очевидно, что результаты не всегда согласуются между собой, это опосредовано рядом причин – этнической принадлежностью популяции, объемом исследуемой выборки, наличием сопутствующих заболеваний и др. Кроме этого, различия между детьми и взрослыми могут быть вызваны наличием или отсутствием, а также разной продолжительностью воздействия на больных астмой

факторов риска окружающей среды, в том числе контактных аллергенов и раздражающих факторов, загрязнения воздуха, курения и профессионального воздействия.

Важный аспект врачебной практики – достижение контроля над заболеванием, что подразумевает персонализированный подход к лечению при любой степени тяжести астмы. Необходимо учитывать, что дети с тяжелой астмой подвержены повышенному риску неблагоприятных исходов, включая побочные эффекты, связанные с приемом лекарств, угрожающие жизни обострения и ухудшение качества жизни. Вследствие этого изучение распределения аллельных вариантов генов цитокинов при астме у больных разных возрастов, представителей разных популяций необходимо продолжать, для того чтобы сформировать факторы риска различных форм астмы для каждой из них. Полученные результаты дополняют данные о характеристике распределения полиморфных вариантов генов цитокинов в русской популяции и у больных астмой с различным течением заболевания. В перспективе это можно будет использовать для формирования планов органов практического здравоохранения в отношении профилактики развития тяжелой неконтролируемой астмы и в целях оптимизации персонализированной терапии.

Список литературы / References

- Жалсанова И.Ж., Брагина Е.Ю., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В., Назаренко М.С., Пузырев В.П. Роль полиморфных вариантов генов *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) и *TNFRSF1B* (rs652625) в развитии аллергических и инфекционных заболеваний. *Мед. генетика*. 2020;19(8):90-91. DOI 10.25557/2073-7998.2020.08.90-91.
- [Zhalsanova I.Zh., Bragina E.Yu., Babushkina N.P., Tarasenko N.V., Nazarenko M.S., Puzyrev V.P. The role of the *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) and *TNFRSF1B* (rs652625) genes polymorphic variants in the allergic and infectious disease's development. *Meditsinskaya Genetika = Medical Genetics*. 2020;19(8):90-91. DOI 10.25557/2073-7998.2020.08.90-91. (in Russian)]
- Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Рамазанова Н.Н., Галимова Е.С., Гималова Г.Ф., Гурьева Л.Л., Левашева С.В., Бикташева А.Р., Мухтарова Л.А., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Исследование роли полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии бронхиальной астмы в Республике Башкортостан. *Пульмонология*. 2012;5:37-40.
- [Karunas A.S., Fedorova Yu.Yu., Ramazanova N.N., Galimova E.S., Gimalova G.F., Guryeva L.L., Levashева S.V., Biktasheva A.R., Mukhtarova L.A., Zagidullin Sh.Z., Etkina E.I., Khusnutdinova E.K. Evaluation of a role of cytokine gene polymorphisms in development of bronchial asthma in the Republic of Bashkortostan. *Pul'monologiya = Pulmonology*. 2012;5:37-40. (in Russian)]
- Кутлина Т.Г., Валова Я.В., Каримов Д.Д., Кудояров Э.Р., Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Кабирова Э.Ф. Роль rs1800925 гена *IL-13* в формировании бронхиальной астмы у жителей Республики Башкортостан. *Вестн. Башкир. гос. мед. ун-та*. 2018;6: 81-84.
- [Kutlina T.G., Valova Ya.V., Karimov D.D., Kudoyarov E.R., Mukhammadiyeva G.F., Karimov D.O., Kabirova E.F. The role of rs1800925 gene *IL-13* in the formation of bronchial asthma in residents of the Republic Bashkortostan. *Vestnik Bashkirskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta = Bulletin of the Bashkir State Medical University*. 2018;6:81-84. (in Russian)]
- Просекова Е.В., Долгополов М.С., Сабынич В.А. Полиморфизм генов, спонтанная и индуцированная продукция клетками периферической крови интерлейкина 4 и интерферона гамма при бронхиальной астме у детей. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2020;4(1):10-14.

- [Prosekova E.V., Dolgoplov M.S., Sabynych V.A. Gene polymorphism, spontaneous and induced production of interleukin 4 and interferon gamma by peripheral blood cells in children with asthma. *Meditsinskoye Obzreniye = Russian Medical Review*. 2020;4(1): 10-14. (in Russian)]
- Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Кучер А.Н. Генетическое разнообразие народонаселения и болезни человека. Томск, 2007.
- [Puzyrev V.P., Freidin M.B., Kucher A.N. Genetic Diversity of the Population and Human Diseases. Tomsk, 2007. (in Russian)]
- Руденко К.А., Тугуз А.Р., Татаркова Е.А. С-589Т полиморфизмы гена *IL-4* в патогенезе бронхиальной астмы. *Вятский мед. вестник*. 2021;2(70):42-47.
- [Rudenko K.A., Tuguz A.R., Tatarkova E.A. C-589T *IL-4* gene polymorphism in the pathogenesis of bronchial asthma. *Vyatskii Meditsinskii Vestnik = Medical Newsletter of Vyatka*. 2021;2(70): 42-47. (in Russian)]
- Chen J., Deng Y., Zhao J., Luo Z., Peng W., Yang J., Ren L., Wang L., Fu Z., Yang X., Liu E. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. *J. Clin. Immunol.* 2010;30(4):539-545. DOI 10.1007/S10875-010-9391-8.
- Chuchalin A.G., Khaltaev N., Antonov N.S., Galkin D.V., Manakov L.G., Antonini P., Murphy M., Solodovnikov A.G., Bousquet J., Pereira M.H.S., Demko I.V. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2014;9:963-974. DOI 10.2147/COPD.S67283.
- Espinoza J.L., Takami A., Nakata K., Onizuka M., Kawase T., Akiyama H., Miyamura K., Morishima Y., Fukuda T., Kodera Y., Nakao S. A genetic variant in the IL-17 promoter is functionally associated with acute graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation. *PLoS One*. 2011;6(10):e26229. DOI 10.1371/JOURNAL.PONE.0026229.
- GBD 2015 Chronic Respiratory Disease Collaborators. Global, regional, and national deaths, prevalence, disability-adjusted life years, and years lived with disability for chronic obstructive pulmonary disease and asthma, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Respir. Med.* 2017;5(9):691-706. DOI 10.1016/S2213-2600(17)30293-X.
- Hancox R.J., Cowan D.C., Aldridge R.E., Cowan J.O., Palmay R., Williamson A., Town G.I., Taylor D.R. Asthma phenotypes: Consistency of classification using induced sputum. *Respirology*. 2012;17(3): 461-466. DOI 10.1111/J.1440-1843.2011.02113.X.
- Hijazi Z., Haider M.Z. Interleukin-4 gene promoter polymorphism [C590T] and asthma in Kuwaiti Arabs. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2000;122(3):190-194. DOI 10.1159/000024396. DOI 10.1165/AJRCMB.25.3.4483.
- Hunninghake G.M., Soto-Quiros M.E., Avila L., Su J., Murphy A., Demeo D.L., Ly N.P., Liang C., Sylvia J.S., Klanderman B.J., Lange C., Raby B.A., Silverman E.K., Celedón J.C. Polymorphisms in IL13, total IgE, eosinophilia, and asthma exacerbations in childhood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007;120(1):84-90. DOI 10.1016/J.JACI.2007.04.032.
- Liu S., Li T., Liu J. Interleukin-4 rs2243250 polymorphism is associated with asthma among Caucasians and related to atopic asthma. *Cytokine*. 2012;59(2):364-369. DOI 10.1016/J.CYTO.2012.05.006.
- Liu Z., Li P., Wang J., Fan Q., Yan P., Zhang X., Han B. A meta-analysis of IL-13 polymorphisms and pediatric asthma risk. *Med. Sci. Monit.* 2014;20:2617. DOI 10.12659/MSM.891017.
- Maalmi H., Beraies A., Charad R., Ammar J., Hamzaoui K., Hamzaoui A. IL-17A and IL-17F genes variants and susceptibility to childhood asthma in Tunisia. *J. Asthma*. 2014;51(4):348-354. DOI 10.3109/02770903.2013.876647.
- Nie W., Zhu Z., Pan X., Xiu Q. The interleukin-4 – 589C/T polymorphism and the risk of asthma: A meta-analysis including 7345 cases and 7819 controls. *Gene*. 2013;520(1):22-29. DOI 10.1016/J.GENE.2013.02.027.
- Omrarinava M., Esлами M.M., Aslami S., Razi B., Imani D., Feyzinia S. Interleukin 13 gene polymorphism and susceptibility to asthma: a meta-regression and meta-analysis. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2020. DOI 10.23822/EURANNACI.1764-1489.180.
- Radhakrishnan A.K., Raj V.L., Tan L.K., Liam C.K. Single nucleotide polymorphism in the promoter of the human interleukin-13 gene is associated with asthma in Malaysian adults. *BioMed Res. Int.* 2013. DOI 10.1155/2013/981012.
- Smirnova S.V., Smolnikova M.V., Konopleva O.S. Polymorphism of genes (IL4, IL5) as a genetic predisposition to asthma in children. *Eur. Respir. J.* 2018;52(Suppl. 62):PA4462. DOI 10.1183/13993003.congress-2018.PA4462.
- Thomsen S.F. Exploring the origins of asthma: Lessons from twin studies. *Eur. Clin. Respir. J.* 2014;1(Suppl. 1):25535. DOI 10.3402/ECRJ.V1.25535.
- Wang J., Zhou J., Lin L.H., Li J., Peng X., Li L. Association of single nucleotide polymorphism of IL-17 gene promoter with childhood asthma. *Acad. J. Second Mil. Med. Univ.* 2011;32(5):481-484. DOI 10.3724/SP.J.1008.2011.00481.
- Wenzel S. Severe asthma: from characteristics to phenotypes to endotypes. *Clin. Exp. Allergy*. 2012; 42(5):650-658. DOI 10.1111/J.1365-2222.2011.03929.X.
- Wilson A.G., Symons J.A., McDowell T.L., Mcdevitt H.O., Duff G.W. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997;94(7):3195-3199. DOI 10.1073/PNAS.94.7.3195.
- Zedan M., Settin A., Farag M.K., El-Bayoumi M., El Regal M.E., El Baz R., Osman E. Gene polymorphisms of tumor necrosis factor alpha-308 and interleukin-10-1082 among asthmatic Egyptian children. *Allergy Asthma Proc.* 2008;29(3):268-273. DOI 10.2500/AAP.2008.29.3123.
- Zhai C., Li S., Feng W., Shi W., Wang J., Wang Q., Chai L., Zhang Q., Yan X., Li M. Association of interleukin-17a rs2275913 gene polymorphism and asthma risk: a meta-analysis. *Arch. Med. Sci.* 2018; 14(6):1204. DOI 10.5114/AOMS.2018.73345.
- Zhang S., Li Y., Liu Y. Interleukin-4 -589C/T polymorphism is associated with increased pediatric asthma risk: a meta-analysis. *Inflammation*. 2015;38(3):1207-1212. DOI 10.1007/S10753-014-0086-9.

ORCID ID

M.V. Smolnikova orcid.org/0000-0001-9984-2029
Ed.W. Kasparov orcid.org/0000-0002-5988-1688
M.A. Malinchik orcid.org/0000-0002-6350-8616
K.V. Kopylova orcid.org/0000-0002-5006-0429

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам клинического отделения соматического и психического здоровья детей НИИ медицинских проблем Севера за помощь в наборе материала.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 10.06.2022. После доработки 09.08.2022. Принята к публикации 25.10.2022.