

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *HHIP*, *ADRB2* И *IL-33* С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Ю.С.Алиева¹, Е.Г.Фурман¹, Е.И.Кондратьева², Е.В. Лошкова³, В.С.Шелудько¹, В.С.Соколовский⁴, М.С.Пономарева¹, Е.А.Хузина¹, Р.С. Айшауова⁵,

1 - ГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» МЗ РФ, г. Пермь, РФ

2 - Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова, Москва, РФ

3 - Сибирский государственный медицинский университет, Томск, РФ

4 - Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel

5 - Медицинский университет Астана, Астана, Казахстан

Бронхиальная астма (БА) – одна из важнейших проблем современной теоретической и практической медицины. Согласно отчету Глобальной сети Астмы (The Global Asthma Network), в настоящее время около 348 млн. человек страдают данным заболеванием, не менее 14% из них – дети [1]. По имеющимся оценкам, в 2019 г. число больных БА составило 262 млн. человек, и было зарегистрировано 461 000 случаев смерти от этой болезни [2].

БА – гетерогенное заболевание, в основе которого лежит хроническое воспаление дыхательных путей, характеризующееся обратимым бронхообструктивным синдромом, повторными эпизодами свистящих хрипов, одышки, заложенности в груди и кашля. Симптомы заболевания варьируют по времени и интенсивности [3, 4]. Основной целью лечения больных БА являются достижение и поддержание оптимального контроля заболевания, предотвращение его обострений [5].

Несмотря на широкую доступность ингаляционных глюкокортикостероидов (иГКС) и наличие стандартизированных рекомендаций по лечению астмы, контроль болезни у большинства детей остается неоптимальным. Более 50% всех детей с БА испытывают не менее одного обострения каждый год, в том числе дети с нетяжелой формой астмы. В России также весьма актуальна проблема контроля астмы, ведь только у 23% пациентов достигается полный контроль заболевания. Среди причин недостаточного контроля БА выделяют низкую приверженность терапии (43%), отсутствие элиминации триггеров (29%), наличие сопутствующих заболеваний (15%), курение (15%) и другое [6]. Однонуклеотидные замены в геноме обуславливают влияние генетического полиморфизма на фенотип заболевания, а также предопределяют различия в клинических проявлениях заболевания, в том числе контроле над симптомами.

Характерной особенностью молекулярной медицины как науки, основанной на данных о молекулярной структуре генома человека, является ее направленность на коррекцию патологического процесса у конкретного человека с учетом его уникальных генетических особенностей. Другой особенностью является профилактическая направленность, когда полученные задолго до явных проявлений заболевания, сведения о геноме могут предупредить его развитие. Генетическая предрасположенность может проявиться при взаимодействии с факторами среды, что формирует патологический фенотип. Наиболее распространенным методом изучения вклада генетических механизмов в развитие БА является поиск ассоциаций заболевания и его фенотипов с полиморфными маркерами генов-кандидатов.

За последнее десятилетие в ходе генетических исследований были выявлены многочисленные гены-кандидаты, обуславливающие предрасположенность к заболеванию БА. Однако, нередко приведенные в литературе результаты носят противоречивый характер, что подтверждает необходимость дальнейшего изучения ассоциаций БА с полиморфными маркерами генов - кандидатов.

Некоторые полиморфные маркеры генов - кандидатов могут способствовать развитию обструкции дыхательных путей вследствие потери эластичности легких, в то

время как другие вносят вклад в формирование хронического воспаления, приводящего к обструкции дыхательных путей или недостаточному ответу на лекарственные препараты, такие как β 2-агонисты или ИГКС [7].

Генетические аспекты контроля над БА у детей продолжают изучаться. В частности известно, что полиморфизм гена β 2-адренергических рецепторов (ген *ADRB2*) ассоциируется с терапевтическим ответом пациентов на бронхорасширяющие препараты – β 2-агонисты. Стимуляция β 2-адренорецепторов приводит к бронходилатации и улучшению бронхиальной проводимости, а также влияет на функционирование Т-клеток, эозинофильное воспаление и вызывает снижение секреции провоспалительных медиаторов из тучных клеток [8].

Продуктом гена *HHIP* (ген взаимодействующего белка семейства Hedgehog) является эволюционно консервативный сигнальный белок, играющий важную роль в широком круге процессов. Есть данные о наличии ассоциации однонуклеотидного полиморфизма rs1828591 гена *HHIP* с предрасположенностью к развитию бронхиальной обструкции [9]. Указывается на связь однонуклеотидного полиморфизма rs1512288 гена *HHIP* с обратимостью бронхиальной обструкции, в то время как с гиперреактивностью бронхов такая связь не обнаружена [10].

Среди значительного количества генов кандидатов БА особое место занимают гены цитокинов-аларминов, играющие ключевую роль на всех стадиях реализации аллергических реакций. В направлении молекулярно-генетических методов перспективным для исследований является ген цитокина-алармина интерлейкина-33 (ИЛ-33). ИЛ-33 является одной из центральных сигнальных молекул иммунных реакций при БА [11]. Роль ИЛ-33, подтверждена в патогенезе БА у детей [12,13]. Установлено, что уровни ИЛ-33 повышены в мокроте и биоптатах бронхов пациентов с астмой [14]. ИЛ-33 представляет собой цитокин тканевого происхождения, который индуцирует и усиливает эозинофильное воспаление и стал многообещающей новой мишенью для лечения астмы и аллергических заболеваний [15].

Связывание ИЛ-33 с его рецептором (ST2) усиливает экспрессию некоторых провоспалительных медиаторов (IL-5, IL-4 и IL-13), и тем самым влияет на опосредованное Th2-клетками эозинофильное воспаление дыхательных путей. Увеличение ИЛ-33 было связано с наличием аллеля rs1342326 гена *IL-33*. Полиморфизм гена *IL-33* rs1342326 был связан с более низким риском астмы у детей в тунисской популяции и более высокой экспрессией цитокина ИЛ-33 [16]. Сообщается, что однонуклеотидный полиморфизм rs992969 гена *IL-33*, был связан с уровнем эозинофилов в крови, астмой и эозинофильной астмой. Полиморфизм rs4008366 гена *IL-33*, показал слабую связь с эозинофильной астмой [17].

С помощью полногеномного секвенирования у исландского населения обнаружили редкий вариант гена *IL-33* (NM_001199640:exon7:c.487-1G>C (rs146597587-C), частота аллеля = 0,65%), который нарушает канонический акцепторный сайт сплайсинга перед последним кодирующим экзоном гена [18]. Этот вариант также встречается с низкой частотой у европейского населения и ассоциируется с более низким количеством эозинофилов и сниженным риском развития астмы у европейцев (OR = 0,47; 95%). У гетерозигот общая экспрессия мРНК ИЛ-33 примерно на 40% ниже, чем у не-носителей. Этот полиморфизм приводит к образованию укороченной формы белка ИЛ-33. Укороченный вариант не образует комплекс ИЛ-33R/ST2 и не активирует клетки, экспрессирующие ST2. Эти данные демонстрируют, что rs146597587-C представляет собой мутацию с потерей функции цитокина [18].

Несмотря на ряд представленных исследований полиморфизмов генов *HHIP*, *ADRB2* и *IL-33* при БА, значение ассоциации полиморфизмов вышеупомянутых генов с клиническим течением БА у детей еще окончательно не определены. В связи с вышесказанным возникает потребность в совершенствовании комплексной оценки степени

контроля БА и определения влияния на него клинических, лабораторных, функциональных и генетических характеристик.

Цель исследования.

Исследовать ассоциацию полиморфных вариантов генов *HHIP*, *ADRB2* и *IL-33* с фенотипами клинического течения БА у детей и эффективностью терапии заболевания

Материалы и методы.

Проведено когортное одноцентровое исследование 90 пациентов с бронхиальной астмой в возрасте от 5 до 17 лет с установленным диагнозом бронхиальная астма с различной степенью тяжести и контроля в период с ноября по 2019 по март 2021 года. Диагноз БА устанавливали на основании действующих клинических рекомендаций. Исследование проводилось на базе Краевой детской клинической больницы г. Перми и поликлиник Пермского края в рамках научного гранта РФФИ.

Критерии включения: дети с установленным диагнозом БА в возрасте от 5 до 17 лет;

Критерии исключения: любые острые респираторные инфекции на период обследования, возраст менее 5 лет (ввиду невозможности проведения спирографии в данной возрастной группе).

У всех участников проведено комплексное обследование клинического состояния и функции внешнего дыхания. В дальнейшем для них был реализован комплекс диагностических процедур, включающих исследование генетического полиморфизма генов *HHIP*, *ADRB2* и *IL-33* для установления связи с клиническими фенотипами, показателями лабораторных, инструментальных исследований, определяющими течение бронхиальной астмы и степень контроля заболевания. У всех пациентов собирали анамнез заболевания, включая аллергологический анамнез, определяли общий анализ крови, риноцитограмму, уровень общего и специфического IgE, иммунограмму по показаниям. Проводили спирографическое исследование, пульсоксиметрию, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, показатели пиковой скорости выдоха (ПСВ). На основании клинических данных, показателей функции внешнего дыхания определяли степень тяжести обострения согласно клиническим рекомендациям. Степень тяжести обострений БА устанавливалась по следующим клиническим критериям – клинические симптомы, ПСВ, частота дыхания, пульс, частота использования препаратов скорой помощи, ночные пробуждения. Уровень контроля над БА определялся согласно (Asthma Control Test – АСТ и C-ACT) и комплексного индекса тяжести бронхиальной астмы (The Composite Asthma Severity Index – CASI)

Материалом для молекулярно-генетического исследования явилась ДНК, выделенная из сухих пятен капиллярной крови, у 90 детей. Проведено исследование частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов: rs12551256-A и rs146597587-G гена *IL-33* у 70 детей; rs12504628 гена *HHIP* и ARG16GLY rs1042713 гена *ADRB2* у 90 больных БА с учетом степени тяжести и контроля заболевания. С целью выявления мутантных аллелей генов применялся метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). У детей с тяжелой степенью БА, а также у детей с плохо контролируемой/неконтролируемой астмой (n=26) дополнительно проведено секвенирование всей кодирующей последовательности гена *IL-33*, расположенного на 9-й хромосоме в области 9p24.1 (поиск мутаций в 9 экзонах).

Отбор случаев осуществляли методом сплошной выборки. Методика определения объема выборки основывалась на использовании специализированной формулы при неизвестном объеме генеральной совокупности:

$$n = t^2 \cdot p \cdot q / \Delta^2$$

где n – объем выборки, t – коэффициент, зависящий от выбранного исследователем доверительного уровня, p – доля респондентов с наличием исследуемого признака,

$q = 1-p$ – доля респондентов, у которых исследуемый признак отсутствует, Δ – предельная ошибка выборки.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов статистических программ Microsoft Excel 2010.

Гипотезу о нормальности распределения исследуемых показателей проверяли с использованием критерия Шапиро-Уилка. С целью распространения выводов на генеральные совокупности (95% достоверность) некоторые показатели были представлены в виде $M \pm 2m$ ($\% \pm 2m$).

При сравнении зависимых и независимых групп признаков, характеризующих уровень контроля и/или степень тяжести заболевания (в зависимости от типа распределений анализируемых показателей) использовали двухвыборочный t-критерий Стьюдента или его непараметрический аналог – U-критерий Манна-Уитни. Для анализа таблиц сопряженности признаков применялся критерий χ^2 Пирсона. Взаимосвязь переменных изучали с использованием корреляционного анализа. Уровень значимости для проверяемых гипотез был принят равным 0,05.

Ожидаемое распределение генотипов оценивалось по формуле Харди-Вайнберга:

$$(q+p)^2 = q^2 + 2pq + p^2$$

где q – частота встречаемости рецессивного гена, p – частота встречаемости доминантного гена, q^2 – частота встречаемости генотипа aa , p^2 – частота встречаемости генотипа AA , $2pq$ – частота встречаемости генотипа Aa .

Для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому, исходя из равновесия Харди-Вайнберга, был использован критерий χ^2 .

Для статистически значимых параметров рассчитывался относительный риск (ОР) по формуле:

$$OP = \frac{A \cdot (C + D)}{C \cdot (A + B)}$$

Доверительный (95%) интервал для ОР рассчитывался по формулам:

$$\text{верхняя граница } e^{\ln(OP) + 1,96 \cdot \sqrt{\frac{B}{A \cdot (A+B)} + \frac{D}{C \cdot (C+D)}}}, \text{ нижняя граница } e^{\ln(OP) - 1,96 \cdot \sqrt{\frac{B}{A \cdot (A+B)} + \frac{D}{C \cdot (C+D)}}}$$

A, B, C, D в формулах – количество наблюдений в клетках четырёхпольной таблицы сопряжённости.

Этическая экспертиза.

Данное исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Перед включением ребенка в исследование было получено информированное согласие в письменном виде от его законного представителя в соответствии с локальными законами и регуляциями. Заключение локального этического комитета при ПГМУ № 5/20 от 4 августа 2020 г.

Результаты и обсуждения.

Все дети обследуемой группы состояли на диспансерном учете у пульмонолога с диагнозом бронхиальная астма. Медиана возраста пациентов была 13 лет [$Q1-Q3$: 9; 15 лет] лет. Всего в исследовании приняли участие 100 детей, из них мальчики – 72 (72%), девочек – 28 (28%). У 62 пациентов БА имела легкое течение, 27 детей наблюдаются с БА средней степени тяжести и 11 детей с тяжелой астмой. Наибольшее число пациентов исследуемой когорты (67 пациентов) имели неполный контроль бронхиальной астмы, у 7 детей диагностировано отсутствие контроля и у 26 пациентов имел место полный контроль.

При сборе анамнестических данных у 87% детей были выявлены факторы нарушения гипоаллергенного режима (наличие дома животных, ковров, цветущих комнатных растений, плесени, пассивного курения, загазованность места проживания выхлопными газами автомобилей или расположенных поблизости промышленных предприятий).

Амбулаторные медицинские карты детей, находящихся на диспансерном наблюдении у участкового врача-педиатра, были проанализированы для оценки коморбидного фона. Изучив сопутствующие заболевания обследуемых детей, наибольший процент приходился на долю аллергического ринита – 80,0%, атопического дерматита – 32,0% и поллиноза – 40,4% (Таблица 1). У большинства детей наблюдалось по два и более сопутствующих заболевания.

Таблица 1

Сопутствующие заболевания у детей с БА

Сопутствующие заболевания	Количество детей с установленным диагнозом, абс.
Аллергический ринит	80
Атопический дерматит	32
Поллиноз	40
Пищевая аллергия	20
Заболевания желудочно-кишечного тракта (хрон. гастродуоденит/ дисфункция билиарного тракта/хронические запоры)	17
Избыток массы тела/ожирение	15
Врожденные пороки развития трахеобронхиального дерева (ТБД): добавочный бронх/транспозиция бронха	16
Крапивница	14

В структуре жалоб обследуемых детей преобладали одышка при физической нагрузке ($70,0 \pm 9,0$), одышка на улице в весенне-летний период ($34,0 \pm 9,3$), при респираторной инфекции ($42,0 \pm 9,7$), затрудненное дыхание со свистящими хрипами ($45,0 \pm 9,8$) и сухой приступообразный кашель ($48,0 \pm 9,8$).

В результате обследования функции внешнего дыхания с использованием метода спирометрии у 29 детей выявлены нарушения по обструктивному типу, а по данным пикфлоуметрического контроля 18% детей отмечали существенное ухудшение показателей и их смещение в «красную» зону, что еще раз подтверждает гипотезу об отсутствии контроля заболевания у больных БА на фоне базисной терапии.

Характеристика изучаемых генотипов.

Распределение генотипов у пациентов с БА соответствовало равновесию Харди-Вайнберга, за исключением генетического варианта rs146597587 гена *IL-33* (G>C), где присутствовали лишь носители одного генотипа GG (таблица 2).

Таблица 2

Распределение частот генотипов изучаемых полиморфизмов (rs12504628 (T>C), rs1042713 (G>A), rs12551256, rs146597587 (G>C)) в группе больных бронхиальной астмой

Ген/ Полиморфизм	Гено-тип	N.O.	N.E.	χ^2 df=1	Частота аллеля	$h_{obs} \pm SE$ $h_{exp} \pm SE$	D
ген <i>HHIP</i> rs12504628 (T>C)	TT	21	18,68	0,254 p=0,614	T=0,455 C=0,544	$h_{obs}=0,444 \pm 0,052$ $h_{exp}=0,101 \pm 0,012$	-0,586
	TC	40	44,64				
	CC	29	26,68				
	T	82	45,56				
	C	98	54,44				

Ген <i>ADRB2</i> rs1042713 (G>A)	GG	40	39,34	0,004 p=0,952	G=0,661 A=0,339	$h_{obs}=0,433\pm 0,052$ $h_{exp}=0,685\pm 0,049$	-0,368
	GA	39	40,33				
	AA	11	10,34				
	G	119	66,11				
	A	61	33,89				
Ген <i>IL-33</i> rs12551256 (A>G)	GG	24	22,56	0,095 p=0,758	G=0,593 A=0,407	$h_{obs}=0,438\pm 0,062$ $h_{exp}=0,825\pm 0,047$	-0,470
	GA	28	30,88				
	AA	12	10,56				
	G	76	59,38				
	A	52	40,63				
Ген <i>IL-33</i> rs146597587 (G>C)	GG	40	100		G=1,0 C=0	$h_{obs}=0$ $h_{exp}=0$	0
	CG	0	0				
	CC	0	0				
	G	80	100				
	C	0	0				

Примечание. N.O. – наблюдаемая численность генотипов; N.E. – ожидаемая численность генотипов; критерий χ^2 использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга; df – число степеней свободы; $h_{obs}\pm s.e.$ и $h_{exp}\pm s.e.$ – соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность с ошибкой; D – относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой.

Поиск ассоциаций генетических маркеров генов HHIP, ADRB2 и IL-33 с клиническим течением бронхиальной астмы

Сравнение генетических маркеров у пациентов с тяжелой БА (тБА) и нетяжелой БА (нБА) выявило снижение риска реализации тяжелого заболевания среди лиц с носительством генотипа ТТ (**OR=0,221 (95% CI: 0,059-0,828; $\chi^2=5,759$; p=0,056)**) и аллеля Т (**OR=0,491 (95% CI: 0,190-1,269; $\chi^2=4,270$; p=0,039)**) изучаемого генетического варианта rs12504628 (T>C) гена *HHIP*, частота генотипа CC при тяжелой БА составила 64%, против 28% при нетяжелой БА, аллеля C 77% против 52% (табл. 3).

Таблица 3

Анализ «случай – контроль» изучаемых генетических вариантов при тяжелой и нетяжелой БА

Ген/ Полиморфизм	Гено- типы/ аллели	БА тяжелая		БА нетяжелая		χ^2	p	OR
		N	%	N	%			
ген <i>HHIP</i> rs12504628 (T>C) 1-T/C, 2-T/T, 3-C/C	ТТ	1	9	20	25	5,759	0,056	0,221 (0,059<OR<0,828)
	TC	3	27	37	47			
	CC	7	64	22	28			
	Т	5	23	77	48	4,270	0,039	0,309 (0,109<OR<0,880)
	С	17	77	81	52			
Ген <i>ADRB2</i> rs1042713 (G>A) 1-G/A, 2-G/G, 3-A/A	GG	5	45	35	44	1,898	0,387	1,048 (0,295<OR<3,720)
	GA	6	55	33	42			
	AA	0	0	11	14			
	G	16	73	103	65	0,211	0,646	1,424 (0,527<OR<3,847)
	A	6	27	55	35			

Ген <i>IL-33</i> rs12551256 (A>G) 1-A/G, 2-A/A, 3-G/G	GG	3	11	21	14	4,345	0,114	0,470 (0,190<OR<1,166)
	GA	с	45	28	40			
	AA	с	44	12	46			
	G	6	33	70	34	0,027	0,870	0,950 (0,646<OR<1,396)
	A	0	67	52	66			
Ген <i>IL-33</i> rs146597587 (G>C) 1-G/C, 2-G/G, 3-C/C	GG	8	11	22	14	4,345	0,114	0,470 (0,190<OR<1,166)
	GC	0	45	0	40			
	CC	0	44	0	46			
	G	16	33	44	34	0,027	0,870	0,950 (0,646<OR<1,396)
	C	0	67	0	66			

Примечание: N – абсолютное число наблюдаемых генотипов, p приведено для теста χ^2 , с – секвенирование.

Сравнение генетических маркеров у пациентов с сочетанием атопического дерматита (АтД) и бронхиальной астмы (БА+АтД) и БА без АтД (БА без АтД) выявило увеличение риска сочетания астмы и дерматита среди лиц с носительством генотипа ТТ (**OR=2,875 (95% CI: 1,130-7,316; $\chi^2=5,751$; p=0,056)**) генетического варианта rs12504628 (T>C) гена *HHIP*.

Анализ генетических маркеров у пациентов с сочетанием врожденных пороков развития трахеобронхиального дерева с астмой (БА+ВПР) и бронхиальной астмой без пороков развития (БА без ВПР) выявил ассоциации с сочетания астмы и ВПР с генотипом АА (**OR=0,182 (95% CI: 0,051-0,646; $\chi^2=8,567$; p=0,014)**) генетического варианта rs1042713 (G>A) гена *ADRB2*, который имеет протективное значение в отношении ВПР, показано, что обладатели генотипа АА в 40% случаев имеют ВПР бронхиального дерева, против 11% носителей генотипа АА без ВПР.

Анализ генетических маркеров у пациентов с БА и отягощенным аллергоанамнезом среди родственников 1 степени родства (БА+ наследственный анамнез) и бронхиальной астмой без отягощенного наследственного аллергоанамнеза (БА без наследственного анамнеза) выявил, что носители генотипа АА (**OR=0,112 (95% CI: 0,013-0,932; $\chi^2=5,554$; p=0,062)**) и носители аллеля А (**OR=0,453 (95% CI: 0,213-0,964; $\chi^2=3,537$; p=0,059)**) генетического варианта rs1042713 (G>A) гена *ADRB2*, имеют меньшую частоту встречаемости отягощенного аллергоанамнеза среди родственников 1 степени родства (4% против 26% для генотипа АА и 26: против 44% для аллеля А).

Анализ генетических маркеров у пациентов с БА и лекарственной аллергией (БА+ЛА) и бронхиальной астмой без лекарственной аллергии (БА без ЛА) выявил, что носители генотипа СС+ТС чаще имеют сочетание астмы и лекарственной аллергии (**OR=2,917 (95% CI: 1,009-8,427; $\chi^2=4,984$; p=0,083)**) генетического варианта rs12504628 (T>C) гена *HHIP*, для аллеля Т была показана протективная роль в отношении реализации лекарственной аллергии (31% против 52%) (**OR=0,416 (95% CI: 0,190-0,909; $\chi^2=4,204$; p=0,040)**).

Анализ генетических маркеров у пациентов с неконтролируемым течением БА и бронхиальной астмой с частичным и полным контролем над симптомами заболевания не выявил ассоциаций с изучаемыми генетическими вариантами.

Носительство генотипа ТТ генетического варианта rs12504628 (T>C) гена *HHIP* снижает риск реализации тяжелой БА, однако в 2,8 раза увеличивает риск сопутствующего атопического дерматита. Носительство генотипов СС+СТ в 2,9 раза увеличивает риск реализации лекарственной аллергии на фоне БА (табл. 4).

Носительство генотипа АА гена *ADRB2* ассоциировано со снижением риска отягощенного аллергоанамнеза среди родственников 1 степени родства и снижением риска реализации врожденных пороков развития трахеобронхиального дерева на фоне БА (табл. 4).

Ассоциации бронхиальной астмы с изучаемыми генетическими вариантами

Ген/ Полиморфизм	Сравнение генотип/аллель	OR (95% CI)	Клинические ассоциации
Ген <i>HNIP</i> rs12504628 (T>C)	TT vs CC+TC	0,221 (0,059- 0,828)	Снижение риска реализации тяжелой БА для носителей генотипа TT
	C vs T	0,309 (0,109- 0,880)	Снижение риска реализации тяжелой БА для носителей аллеля T
	TT vs CC+TC	2,875 (1,130- 7,316)	Увеличение риска сочетания БА и атопического дерматита для носителей генотипа TT
	CC+TC vs TT	2,917 (1,009- 8,427)	Увеличение риска сочетания БА и лекарственной аллергии для носителей генотипа CC+CT
	C vs T	0,416 (0,190- 0,909)	Снижение риска реализации лекарственной аллергии на фоне БА для носителей аллеля T
Ген <i>ADRB2</i> rs1042713 (G>A)	AA vs GA+GG	0,182 (0,051- 0,646)	Снижение риска реализации ВПР бронхиального дерева на фоне БА для носителей генотипа AA
	AA vs GA+GG	0,112 (0,013- 0,932)	Снижение частоты отягощенного аллергоанамнеза на фоне БА для носителей генотипа AA
	A vs G	0,453 (0,213- 0,964)	Снижение частоты отягощенного аллергоанамнеза на фоне БА для носителей аллеля A

Секвенирование и анализ экзона гена *IL-33* показали наличие статистически значимой положительной связи между частотой повреждений в экзонах 4 ($r=0,417$; $p=0,034$) и 6 ($r=0,593$; $p=0,001$) с одной стороны и степенью тяжести БА – с другой. Установлено, что замены нуклеотидов в этих экзонах чаще ассоциируются с тяжелым течением бронхиальной астмы.

В исследовании [14] показано, что гомозиготный вариант по Arg16 гена *ADRB2* ассоциирован с повышенным риском развития более тяжелой формы бронхиальной астмы, а также ее ночной формы, по сравнению с гомозиготами по аллелю Gly16. Анализ 28 опубликованных исследований об ассоциации полиморфизмов гена бета2-адренорецепторов с фенотипами БА подтвердил связь между полиморфизмом Gly16 и ночной астмой, но не обнаружена связь между вариантом Arg16Gly и бронхиальной гиперреактивностью [20, 21]. В нашем исследовании нам удалось подтвердить, что генотип AA гена *ADRB2* ассоциировался со снижением риска отягощенного аллергоанамнеза среди родственников 1 степени родства и снижением риска реализации врожденных пороков развития трахеобронхиального дерева на фоне БА.

Следует отметить, что дети с указанным генотипом AA гена *ADRB2* в нашей выборке не получали длительно действующие b2-агонисты в качестве монопрепаратов базисной терапии и не использовали монотерапию b2-агонистами короткого действия в качестве препаратов неотложной помощи за последние 6 месяцев. Следовательно, не представляется возможным оценить риск обострения заболевания у носителей генотипа Arg16, которые прибегают к использованию b2-агонистов.

В настоящее время установлено, что ген *HHIP* влияет на состояние как мелких, так и крупных дыхательных путей [22]. Наличие аллеля А полиморфизма rs13118928 гена *HHIP* может быть связано с фенотипом эмфизема-гиперинфляция у больных хронической обструктивной болезни легких [23]. Известно, что состояние функции внешнего дыхания – является важнейшим критерием тяжести бронхиальной астмы. Мы установили, что носительство генотипа ТТ генетического варианта rs12504628 (Т>С) гена *HHIP* снижает риск реализации тяжелой БА, однако увеличивает в 2,8 раза риск сочетанного с БА atopического дерматита. Наличие генотипов СС+СТ в 2,9 раза увеличивает риск реализации лекарственной аллергии на фоне БА.

С одной стороны мы не выявили ассоциации генетических вариантов полиморфизма rs12551256 гена *IL-33* с особенностями клинического течения БА. При анализе генотипов полиморфизма rs146597587 (G>C) гена *IL-33* все дети были носителями генотипа одного генотипа. С другой стороны было установлено, что замены нуклеотидов в экзонах 4 и 6 гена *IL-33* ассоциированы с тяжелым течением бронхиальной астмы. Это обосновывает целесообразность дальнейшего изучения полиморфизма экзонов гена *IL-33* и его ассоциаций с клиническим течением бронхиальной астмы у детей при увеличении объема выборки пациентов.

Ограничения исследования.

Ассоциацию полиморфизмов генов *HHIP*, *ADRB2* и *IL-33* у детей невозможно экстраполировать на всю популяцию российских детей ввиду малочисленности исследуемой выборки. Возможно, при увеличении размера выборки распределения генотипов и аллелей указанных генов будут отличаться от приведенных в данной статье. Нами не проведен многофакторный анализ с поправкой на обнаруженные ассоциации генов с учетом носительства полиморфных вариантов других генов и факторов среды, что может повлиять на результаты оценки эффекта изучаемых генов.

Заключение и выводы.

Проведенное исследование полиморфизмов генов *HHIP*, *ADRB2* и *IL-33* у детей, страдающих БА, с разными фенотипами заболевания выявило ассоциацию между полиморфизмами генов и тяжестью заболевания, а также с сопутствующими заболеваниями.

Показано, что генотип ТТ генетического варианта rs12504628 (Т>С) гена *HHIP* снижает риск реализации тяжелой БА, однако увеличивает в 2,8 раза риск сочетанного с БА atopического дерматита. Генотип СС+СТ гена *HHIP* в 2,9 раза увеличивает риск реализации лекарственной аллергии на фоне БА.

Генотипа АА гена *ADRB2* ассоциировано с отсутствием отягощенного аллергоанамнеза среди родственников 1 степени родства и снижением риска реализации врожденных пороков развития трахеобронхиального дерева на фоне БА. Полиморфные варианты в 4 и 6 экзонах гена *IL-33* чаще сочетаются со среднетяжелой и тяжелой астмой, а замены нуклеотидов в экзонах 4 и 6 ассоциированы с тяжелым течением БА. Это дает основание полагать, что следует обращать внимание на экзоны 4 и 6 в клинической практике для прогнозирования течения заболевания и своевременной коррекции базисной терапии.

Таким образом, в данном исследовании установлены ассоциации полиморфных вариантов генов *HHIP*, *ADRB2* и *IL-33* с клиническими проявлениями бронхиальной астмы у детей, которые могут учитываться при персонализированном наблюдении за этими пациентами, и могут помочь в достижении полного контроля над заболеванием.

Это исследование было поддержано совместным грантом Министерства науки и технологии Израиля (MOST, 3-16500) Российского центра научной информации (РФФИ) (совместный исследовательский проект 19-515-06001)

Список литературы

1. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2020. Available from: www.ginasthma.org.
2. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020; 396 (10258): 1204-1222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9)
3. Жмуров Д.В., Парфентева М.А., Семенова Ю.В. Бронхиальная астма. *Colloquium-journal*. 2020; 14: 66-72. doi: 10.24411/2520-6990-2020-11894
4. Овсянников, Д. Ю. Бронхиальная астма у детей / Д. Ю. Овсянников, Е. Г. Фурман, Т. И. Елисеева. – Москва : Российский университет дружбы народов (РУДН), 2019. – 211 с. – ISBN 978-5-209-09256-8. – EDN IYOKOW.
5. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur. Respir. J.* 2008 Jan; 31 (1): 143-178. doi: 10.1183/09031936.00138707. Erratum in: *Eur. Respir. J.* 2018 Jan 31; 51 (2). PMID: 18166595.
6. Allegra L, Cremonesi G, Girbino G, et al. Real-life prospective study on asthma control in Italy: cross-sectional phase results. *Respir. Med.* 2012; 106 (2): 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2011.10.001>
7. Черкашина И., Никулина С., Логвиненко Н., Максимов В., Либердовская Е. Клинико-генетический анализ больных бронхиальной астмой. *Пульмонология*. 2009; 2: 77-81. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2009-2-77-81>.
8. Семейный полиморфизм гена ADRB2 при бронхиальной астме в детском возрасте / М. С. Пономарева, Е. Г. Фурман, Е. А. Хузина [и др.] // Пермский медицинский журнал. – 2015. – Т. 32, № 5. – С. 30-36.
9. Черкашина И. И., Разводовская, А. В., Никулина, С. Ю., Шестовицкий, В. А. и др. Полиморфизмы некоторых генов у больных бронхиальной астмой жителей Красноярска //Пульмонология. – 2016. – Т. 26. – №. 3. – С. 293-302.
10. Li X, Howard TD, Moore WC, Ampleford EJ, Li H, Busse WW, Calhoun WJ, Castro M, Chung KF, Erzurum SC, Fitzpatrick AM, Gaston B, Israel E, Jarjour NN, Teague WG, Wenzel SE, Peters SP, Hawkins GA, Bleecker ER, Meyers DA. Importance of hedgehog interacting protein and other lung function genes in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jun;127(6):1457-65.
11. Korppi M, Teräsjarvi J, Lauhkonen E, et al. IL33 rs1342326 gene variation is associated with allergic rhinitis at school age after infant bronchiolitis. *Acta Paediatr*. 2020 Oct; 109 (10): 2112-2116. doi: 10.1111/apa.15175. PMID: 31955459.
12. Wang Y, Wang L, Hua S. Interleukin-33 in children with asthma: A systematic review and meta-analysis. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. 2017 Jul-Aug; 45 (4): 387-392. doi: 10.1016/j.aller.2016.12.007. PMID: 28410870.
13. Saikumar Jayalatha AK, Hesse L, Ketelaar ME, et al. The central role of IL-33/IL-1RL1 pathway in asthma: From pathogenesis to intervention. *Pharmacol. Ther.* 2021 Sep; 225: 107847. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.107847. PMID: 33819560.
14. Hamzaoui A, Berraies A, Kaabachi W, et al. Induced sputum levels of IL-33 and soluble ST2 in young asthmatic children. *J. Asthma*. 2013 Oct; 50 (8): 803-809. doi: 10.3109/02770903.2013.816317. PMID: 23855553.
15. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol. Rev.* 2018 Jan; 281 (1): 154-168. doi: 10.1111/imr.12619. PMID: 29247993.
16. Charrad R, Kaabachi W, Berraies A, Hamzaoui K, Hamzaoui A. IL-33 gene variants and protein expression in pediatric Tunisian asthmatic patients. *Cytokine*. 2018 Apr;104:85-91.
17. Ketelaar ME, Portelli MA, Dijk FN, Shrine N, Faiz A, Vermeulen CJ, Xu CJ, Hankinson J, Bhaker S, Henry AP, Billington CK, Shaw DE, Johnson SR, Benest AV, Pang V, Bates DO, Pogson ZEK,

- Fogarty A, McKeever TM, Singapuri A, Heaney LG, Mansur AH, Chaudhuri R, Thomson NC, Holloway JW, Lockett GA, Howarth PH, Niven R, Simpson A, Tobin MD, Hall IP, Wain LV, Blakey JD, Brightling CE, Obeidat M, Sin DD, Nickle DC, Bossé Y, Vonk JM, van den Berge M, Koppelman GH, Sayers I, Nawijn MC. Phenotypic and functional translation of IL33 genetics in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2021 Jan;147(1):144-157
18. Smith D, Helgason H, Sulem P, Bjornsdottir US, Lim AC, Sveinbjornsson G, Hasegawa H, Brown M, Ketchum RR, Gavala M, Garrett L, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Sigurdsson A, Magnusson OT, Eyjolfsson GI, Olafsson I, Onundarson PT, Sigurdardottir O, Gislason D, Gislason T, Ludviksson BR, Ludviksdottir D, Boezen HM, Heinzmann A, Krueger M, Porsbjerg C, Ahluwalia TS, Waage J, Backer V, Deichmann KA, Koppelman GH, Bønnelykke K, Bisgaard H, Masson G, Thorsteinsdottir U, Gudbjartsson DF, Johnston JA, Jonsdottir I, Stefansson K. A rare IL33 loss-of-function mutation reduces blood eosinophil counts and protects from asthma. *PLoS Genet*. 2017 Mar 8;13(3):e1006659
 19. Alieva Yu.S., Furman E.G., Khuzina E.A., Abdrakhmanova S.T., Ponomareva M.S., Sheludko V.S., Sokolovsky V.L. Biomarkers of inflammation and control of bronchial asthma in children. *Vopr. prakt. pediatr. (Clinical Practice in Pediatrics)*. 2023; 18(5): 13–20
 20. Contopoulos-Ioannidis D. G., Manoli E. N., Ioannidis J. P. A. Meta-analysis of the association of β 2-adrenergic receptor polymorphisms with asthma phenotypes // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2005. – Т. 115. – №. 5. – С. 963-972.
 21. Фурман, Е. Г. Бронхиальная астма у детей: маркеры воспаления и состояние функции внешнего дыхания / Е. Г. Фурман, И. П. Корюкина. – Пермь : Книжный формат, 2010. – 183 с.
 22. van der Plaat DA, de Jong K, Lahousse L, Faiz A, Vonk JM, van Diemen CC, Nedeljkovic I, Amin N, Obeidat M, van Duijn CM, Boezen HM, Postma DS. The Well-Known Gene HHIP and Novel Gene MECR Are Implicated in Small Airway Obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Nov 15;194(10):1299-1302.
 23. Bártholo TP, Porto LC, Pozzan R, Nascimento A, Da Costa CH. Evaluation Of HHIP Polymorphisms And Their Relationship With Chronic Obstructive Pulmonary Disease Phenotypes. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2019 Oct 3;14:2267-2272.