

УДК 575.174.015.3

ВАЛИДАЦИЯ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА rs10455025 ГЕНА TSLP С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Сережкина А.В., Полоников А.В., Яковлева Д.Р.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

305041, Курск, ул. К. Маркса, 3, Российская Федерация

Актуальность. Бронхиальная астма (БА) – это хроническое воспалительное заболевание дыхательной системы, в развитии которого ведущая роль отводится тучным клеткам, эозинофилам и Т-лимфоцитам. Распространенность БА неоднородна и составляет от 4 до 35% населения. Данное заболевание можно отнести к болезням цивилизации, так как наибольший процент пациентов, страдающих патологией дыхательной системы наблюдается в экономически развитых районах, например, в России заболеваемость варьирует от 1 до 10%, а в некоторых промышленных районах до 30%. Причем, на возраст до 10 лет приходится 34% заболевших, от 10 до 20 лет – 14%, а у пациентов в возрасте от 20 до 40 лет эта цифра достигает 17%. Такое повышенное проявление этого заболевания детского населения в раннем возрасте к моменту полового созревания или становится менее выраженным, или полностью исчезает.

Цель: исследовать ассоциацию полиморфного варианта rs10455025 гена TSLP, установленного в результате GWAS, с риском развития БА в российской популяции.

Материал и методы. В исследование была включена выборка из 851 неродственного ребенка, включающая 474 пациента с подтвержденным диагнозом БА и относительно здоровых детей. Все пациенты были славянского происхождения и уроженцами Курской области. Пациенты проходили лечение в отделениях Курской областной детской клинической больницы. Для выделения геномной ДНК у всех пациентов проводился забор венозной крови. Генотипирование SNP rs10455025 гена TSLP проводилось на генетическом анализаторе MASSARRAY-4 (AGENABIOSCIENCE, США) в НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета. Ассоциации полиморфизма с риском развития БА исследовались методом логистической регрессии с расчетом шансов (OR) и 95% доверительных интервалов (CI), с использованием статистического пакета SNPStats.

Результаты исследования. Частоты генотипов SNP rs10455025 гена TSLP находились в равновесии Харди-Вайнберга в обеих группах пациентов ($P > 0,05$). Различия в частоте минорного аллеля между группами больных БА и здоровых детей не обнаружено. В то же самое время установлено, что носительство генотипов rs10455025C/A-C/C гена TSLP ассоциировалось с повышенным риском развития бронхиальной астмы у детей ($OR = 1,34$ 95%CI 1,02-1,76, $P = 0,03$) независимо от пола и возраста пациентов.

Заключение. Ранее известная ассоциация полиморфизма rs10455025 с риском развития БА успешно подтвердилась в российской популяции, хотя сила связи данного SNP с развитием БА была слабо выраженной. Необходимы дальнейшие исследования данного полиморфизма на других популяциях России, а также требуется проведение функционального аннотирования данного SNP и оценка его патофизиологической вовлеченности в развитие болезни.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гены, Российская Федерация, лечение, диагностика.

Сережкина Александра Владимировна – ассистент кафедры педиатрии КГМУ, г. Курск. ORCID ID: 0000-0002-0283-2498. E-MAIL: ALEKSANDRA.YKV@GMAIL.COM.

Полоников Алексей Валерьевич – д.м.н., профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, КГМУ, г. Курск. ORCID ID: 0000-0001-6280-247X. E-MAIL: POLONIKOV@RAMBLER.RU.

Яковлева Дарья Руслановна – студентка 5 курса лечебного факультета, КГМУ, г. Курск. E-MAIL: DARYA.YAKOVLEVA.086@MAIL.RU (автор, ответственный за переписку).

УДК 575.174.015.3

VALIDATION OF POLYMORPHISM RS10455025 OF THE TSLP GENE WITH THE RISK OF BRONCHIAL ASTHMA IN THE RUSSIAN POPULATION

SEREZHKINA A.V., POLONIKOV A.V., YAKOVLEVA D.R.

KURSK STATE MEDICAL UNIVERSITY (KSMU)

305041, 3, K. MARX STREET, KURSK, RUSSIAN FEDERATION

RELEVANCE. BRONCHIAL ASTHMA (BA) IS A CHRONIC INFLAMMATORY DISEASE OF THE RESPIRATORY SYSTEM, IN THE DEVELOPMENT OF WHICH THE LEADING ROLE IS ASSIGNED TO MAST CELLS, EOSINOPHILS AND T LYMPHOCYTES. THE PREVALENCE OF AD IS HETEROGENEOUS AND RANGES FROM 4 TO 35% OF THE POPULATION. THIS DISEASE CAN BE ATTRIBUTED TO DISEASES OF CIVILIZATION, SINCE THE LARGEST PERCENTAGE OF PATIENTS SUFFERING FROM PATHOLOGY OF THE RESPIRATORY SYSTEM IS OBSERVED IN ECONOMICALLY DEVELOPED AREAS, FOR EXAMPLE, IN RUSSIA THE INCIDENCE VARIES FROM 1 TO 10%, AND IN SOME INDUSTRIAL AREAS UP TO 30%. MOREOVER, 34% OF PATIENTS UNDER THE AGE OF 10 YEARS OLD ACCOUNT FOR, 14% FROM 10 TO 20 YEARS OLD, AND IN PATIENTS AGED 20 TO 40 YEARS, THIS FIGURE REACHES 17%. SUCH AN INCREASED MANIFESTATION OF THIS DISEASE IN THE CHILD POPULATION AT AN EARLY AGE BY THE TIME OF PUBERTY EITHER BECOMES LESS PRONOUNCED OR DISAPPEARS COMPLETELY.

THE AIM OF THE STUDY WAS TO INVESTIGATE THE ASSOCIATION OF THE POLYMORPHIC VARIANT RS10455025 OF THE TSLP GENE, ESTABLISHED AS A RESULT OF GWAS, WITH THE RISK OF DEVELOPING AD IN THE RUSSIAN POPULATION.

MATERIAL AND METHODS. THE STUDY INCLUDED A SAMPLE OF 851 UNRELATED CHILDREN, INCLUDING 474 PATIENTS WITH A CONFIRMED DIAGNOSIS OF ASTHMA AND RELATIVELY HEALTHY CHILDREN. ALL PATIENTS WERE OF SLAVIC ORIGIN AND NATIVES OF THE KURSK REGION. THE PATIENTS WERE TREATED IN THE DEPARTMENTS OF THE KURSK REGIONAL CHILDREN'S CLINICAL HOSPITAL. VENOUS BLOOD SAMPLING WAS PERFORMED IN ALL PATIENTS TO ISOLATE GENOMIC DNA. THE SNP RS10455025 GENOTYPING OF THE TSLP GENE WAS PERFORMED ON THE MASSARRAY-4 GENETIC ANALYZER (AGENABIOSCIENCE, USA) AT THE RESEARCH INSTITUTE OF GENETIC AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF KURSK STATE MEDICAL UNIVERSITY. ASSOCIATIONS OF POLYMORPHISM WITH THE RISK OF DEVELOPING AD WERE STUDIED BY THE METHOD OF LOGISTIC REGRESSION WITH THE CALCULATION OF ODDS (OR) AND 95% CONFIDENCE INTERVALS (CI), USING THE STATISTICAL PACKAGE SNPSTATS.

THE RESULTS OF THE STUDY. THE FREQUENCIES OF THE SNP RS10455025 GENOTYPES OF THE TSLP GENE WERE IN THE HARDY-WEINBERG EQUILIBRIUM IN BOTH GROUPS OF PATIENTS ($P > 0.05$). THERE WERE NO DIFFERENCES IN THE FREQUENCY OF THE MINOR ALLELE BETWEEN THE GROUPS OF AD PATIENTS AND HEALTHY CHILDREN. AT THE SAME TIME, IT WAS FOUND THAT THE CARRIAGE OF RS10455025C/A-C/C GENOTYPES OF THE TSLP GENE WAS ASSOCIATED WITH AN INCREASED RISK OF DEVELOPING BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN ($OR = 1.34$ 95%CI 1.02-1.76, $P = 0.03$) REGARDLESS OF THE GENDER AND AGE OF PATIENTS.

CONCLUSION. THE PREVIOUSLY KNOWN ASSOCIATION OF RS10455025 POLYMORPHISM WITH THE RISK OF DEVELOPING AD WAS SUCCESSFULLY CONFIRMED IN THE RUSSIAN POPULATION, ALTHOUGH THE STRENGTH OF THE ASSOCIATION OF THIS SNP WITH THE DEVELOPMENT OF AD WAS WEAKLY EXPRESSED. FURTHER STUDIES OF THIS POLYMORPHISM IN OTHER POPULATIONS OF RUSSIA ARE NEEDED, AND FUNCTIONAL ANNOTATION OF THIS SNP AND ASSESSMENT OF ITS PATHOPHYSIOLOGICAL INVOLVEMENT IN THE DEVELOPMENT OF THE DISEASE ARE ALSO REQUIRED.

KEYWORDS: BRONCHIAL ASTHMA, GENES, RUSSIAN FEDERATION, TREATMENT, DIAGNOSIS.

SEREZHKINA ALEKSANDRA V. – ASSISTANT PROFESSOR OF THE DEPARTMENT OF PEDIATRICS, KSMU, KURSK, RUSSIAN FEDERATION. ORCID ID: 0000-0002-0283-2498. E-MAIL: ALEKSANDRA.YKV@GMAIL.COM.

POLONIKOV ALEKSEY V. – DOCTOR OF MEDICAL SCIENCES, PROFESSOR OF THE DEPARTMENT OF BIOLOGY, MEDICAL GENETICS AND ECOLOGY, KSMU, KURSK, RUSSIAN FEDERATION. ORCID ID 0000-0001-6280-247X. E-MAIL: POLONIKOV@RAMBLER.RU.

YAKOVLEVA DARYA R. – 5TH YEAR STUDENT OF THE FACULTY OF MEDICINE, KSMU, KURSK, RUSSIA. E-MAIL: DARYA.YAKOVLEVA.086@MAIL.RU (THE AUTHOR RESPONSIBLE FOR THE CORRESPONDENCE).

АКТУАЛЬНОСТЬ

Бронхиальная астма характеризуется вовлечением дыхательной системы с преимущественным развитием воспаления дыхательных путей со склонностью к хронизации процесса. Заболевание характеризуется приступами удушья, экспираторной одышкой, затруднением носового дыхания, чувством стеснения в грудной клетке. Важной особенностью БА в отличие от других хронических заболеваний дыхательной системы является обратимость явлений бронхиальной обструкции с помощью бронходилататоров [1, 3, 4].

По патогенезу БА разделяется на atopическую, инфекционную, аспириновую, связанную с физическим напряжением, пищевую, стероидозависимую. При atopической БА приступ удушья обычно возникает вследствие контакта с причинно-значимым аллергеном, однако также может провоцироваться и другими факторами. Помимо приступов удушья часто возникает приступообразный сухой или с выделением стекловидной трудноотделяемой мокроты кашель, усиливающийся в ночное время. Atopическая форма БА характеризуется сочетанием с другими аллергическими заболеваниями, например, с аллергическим ринитом, конъюнктивитом или дерматитом. Однако, при неправильной диагностике данное воспалительное заболевание легко можно спутать с различными синдромами и болезнями.

Дисфункция вокальных хорд (ДВХ) – это синдром, развитие которого в настоящее время объясняется интермиттирующим парадоксальным смыканием голосовых связок во время вдоха или в обе фазы дыхательного цикла, что приводит к вариабельной обструкции верхних дыхательных путей и появлению соответствующих симптомов [5, 6]. Чаще всего этот феномен отмечается у женщин в возрасте от 20 до 40 лет, но нередко встречается также как у детей, так и у лиц пожилого возраста.

Наиболее типичной жалобой больных с ДВХ является одышка, которая может возникать внезапно или после воздейст-

вия триггеров и сопровождается в типичных случаях высокотональным стридором и ощущением свистящего дыхания. Эти симптомы сопровождаются сухим «лающим» кашлем, изменением голоса (хриплый голос), чувством раздражения горла. Больным с подобной жалобой нередко ставят диагноз БА, хотя стандартная противоастматическая терапия никак не поможет в лечении данного синдрома [6, 7].

Указывается, что до установления правильного диагноза приблизительно 1/3 больных с ДВХ лечилась по поводу БА и в этих случаях нередко ошибочно устанавливается диагноз тяжелой рефрактерной глюкокортикостероид (ГКС)-зависимой БА [7, 8].

Диагноз БА является сугубо клиническим и устанавливается на основании жалоб и анамнестических данных пациента, клинко-функционального обследования с оценкой обратимости бронхиальной обструкции, специфического аллергологического обследования (кожные тесты с аллергенами и/или исследование специфических IgE в сыворотке крови) и исключения других заболеваний.

Таким образом, рассматривая вопрос объективной диагностики бронхиальной астмы, многие исследователи цитируют известного американского отоларинголога Ш. Джексона: «Не все хрипы – астма». Стоит также отметить, что свистящие хрипы являются ведущими в диагностике БА, однако отмечаются и при ряде других заболеваний [8, 9].

Бронхиальная астма является распространенным мультифакториальным заболеванием дыхательных путей. Полногеномные ассоциативные исследования (GENOME-WIDE ASSOCIATION-STUDIES, GWAS) представляют собой разновидность генетических исследований, целью которых является анализ ассоциаций между геномными вариантами и фенотипическими признаками в популяции.

За последние 12 лет было установлено более 60 тысяч ассоциаций между тремя миллионами однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNPs) и 829 заболеваниями [9].

На основании данных исследований было выявлено большое количество полиморфных вариантов генов, ассоциированных с предрасположенностью к бронхиальной астме (БА). Согласно данным каталога полногеномных ассоциативных исследований (<https://www.ebi.ac.uk/gwas>) проведено 190 крупных исследований, установивших 3287 ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) с риском развития БА в различных популяциях мира. Хотя аллели повышенного риска БА, выявленные с помощью GWAS, имели слабые эффекты на фенотип болезни и объясняли лишь небольшую часть её распространенности, подтверждение выявленных ассоциаций в независимых популяциях мира дает дополнительные аргументы в пользу патофизиологической причастности локусов и открывает возможности создания национальных рекомендаций по генетическому тестированию предрасположенности к болезни.

Цель исследования – исследовать ассоциацию полиморфного варианта rs10455025 гена TSLP, установленного в результате GWAS, с риском развития БА в российской популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование была включена выборка из 851 неродственного ребенка, включающая 474 пациента с подтвержденным диагнозом БА и 377 относительно здоровых детей. Все пациенты были славянского происхождения и уроженцами Курской области. Пациенты проходили лечение в отделениях Курской областной детской клинической больницы. Для выделения геномной ДНК у всех пациентов проводился забор венозной крови. Генотипирование SNP rs10455025 гена TSLP проводилось на генетическом анализаторе MassARRAY-4 (AgenaBioscience, США) в НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета.

Ассоциации полиморфизма с риском развития БА исследовались методом логистической регрессии с расчетом отношения шансов (OR) и 95% доверительных интервалов (CI), с использованием статистического пакета SNPSTATS.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частоты генотипов SNP rs10455025 гена TSLP находились в равновесии Харди-Вайнберга в обеих группах пациентов ($P > 0,05$). Различия в частоте минорного аллеля между группами больных БА и здоровых детей не обнаружено.

В то же самое время установлено, что носительство генотипов rs10455025C/A-C/C гена TSLP ассоциировалось с повышенным риском развития бронхиальной астмы у детей ($OR = 1,34$ 95%CI 1,02-1,76, $P = 0,03$) независимо от пола и возраста пациентов.

Ранее в многоцентровых исследованиях, выполненных на крупных этнически разнообразных когортах, было установлено, что аллель rs10455025C ассоциирован с повышенным риском развития БА, а также уровнем эозинофилов в крови. Функциональных исследований полиморфизма rs10455025 не проводилось. Исследуемый полиморфизм расположен между генами TSLP и BCLAF1P1.

Согласно данным портала eQTLGEN (<https://www.eQTLGEN.ORG>), аллель rs10455025C ассоциирован с повышенной экспрессией гена CAMK4-CALCIUM/CALMODULINDEPENDENTPROTEINKINASE IV ($P = 1,2 \times 10^{-9}$) и пониженной экспрессией гена SLC25A46 - SOLUTECARRIERFAMILY 25 MEMBER 46 ($P = 1,7 \times 10^{-7}$) в крови.

ВЫВОДЫ

Ранее известная ассоциация полиморфизма rs10455025 с риском развития бронхиальной астмы успешно подтвердилась в российской популяции, хотя сила связи данного SNP с развитием бронхиальной астмы была слабо выраженной.

Необходимы дальнейшие исследования данного полиморфизма на других популяциях России, а также требуется проведение функционального аннотирования данного SNP и оценка его патофизиологической вовлеченности в развитие болезни.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Сережкина А.В. – разработка концепции, обработка материала;

Полоников А.В. – разработка концепции, утверждение окончательного варианта статьи;

Яковлева Д.Р. – подготовка черновика статьи, редактирование текста.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абросимов В.Н. Бронхиальная астма и функциональные нарушения дыхания: синдром «бронхиальная астма-плюс». *Пульмонология*. 2018;28(6):722-729. DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-6-722-729. EDN: ZAHMZN.
2. Гулиева Г.Р., Петров М.В., Петров Р.В. Бронхиальная астма, приступ бронхиальной астмы (первая помощь). *Вестник научных конференций*. 2016;11-6(15):54-56. EDN: XICLV7.
3. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. *Аллергология и иммунология: национальное руководство*. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 656с.
4. BISDORFF B., KENN K., NOWAK D., SCHLICHTIGER J., BÄUML J., ORBAN E., RADON K. ASTHMA AND VOCAL CORD DYSFUNCTION RELATED SYMPTOMS IN THE GENERAL POPULATION – A PILOT STUDY. *ANN. ALLERGY ASTHMA IMMUNOL.* 2014;113(5):576–577. DOI: 10.1016/j.anai.2014.08.009.
5. CHANG D., HUNKAPILLER J., BHANGALE T., REEDER J., MUKHYALA K., TOM J., COWGILL A., VOGEL J., FORREST W.F., KHAN Z., STOCKWELL A., MCCARTHY M.I., STATON T.L., OLSSON J., HOLWEG C.T.J., CHEUNG D.S., CHEN H., BRAUER M.J., GRAHAM R.R., BEHRENS T., WILSON M.S., ARRON J.R., CHOY D.F., YASPAN B.L.. A WHOLE GENOME SEQUENCING STUDY OF MODERATE TO SEVERE ASTHMA IDENTIFIES A LUNG FUNCTION LOCUS ASSOCIATED WITH ASTHMA RISK. *SCI REP.* 2022;12(1):5574. DOI: 10.1038/s41598-022-09447-8.
6. FRETZAYAS A., MOUSTAKI M., LOUKOU I., DOUROS K. DIFFERENTIATING VOCAL CORD DYSFUNCTION FROM ASTHMA. *J. ASTHMA ALLERGY*. 2017;(10):277–283. DOI: 10.2147/JAA.S146007.
7. THOMSEN S.F. GENETICS OF ASTHMA: AN INTRODUCTION FOR THE CLINICIAN. *EUR CLIN RESPIR J.* 2015;2(1):24643. DOI: 10.3402/ECRJ.V2.24643.
8. VUCKOVIC D., BAO E.L., AKBARI P., LAREAU C.A., MOUSAS A., JIANG T., CHEN M., RAFFIELD L.M., TARDAGUILA M., HUFFMAN J.E., RITCHIE S.C., MEGY K., PONSTINGL H., PENKETT C.J., ALBERS P.K., WIGDOR E.M., SAKAUE S., MOSCATI A., MANANSALA R., LO K.S., QIAN H., AKIYAMA M., BARTZ T.M., BEN-SHLOMO Y., BESWICK A., BORK-JENSEN J., BOTTINGER E.P., BRODY J.A., VAN ROOIJ F.G.A., CHITRALA K.N., WILSON P.W.F., CHOQUET H. THE POLYGENIC AND MONOGENIC BASIS OF BLOOD TRAITS AND DISEASES. *CELL*. 2020;182(5):1214-1231.e11. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.008.
9. YOON D., BAN H., KIM Y., KIM E., KIM H., HAN B., PARK J., HONG S., CHO S., PARK K., LEE J. REPLICATION OF GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES ON ASTHMA AND ALLERGIC DISEASES IN KOREAN ADULT POPULATION. *BMB REP.* 2014;45(5):305-310. DOI: 10.5483/BMBREP.2012.45.5.305.