



Дитятковський В.О. , Кривуша О.Л. , Токарева Т.М.
Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна

Розвиток моноорганичних та поліорганних фенотипів бронхіальної астми у дітей: роль комбінованих одонуклеотидних варіацій

For citation: *Child`s Health*. 2023;18(6):438-445 doi: 10.22141/2224-0551.18.6.2023.1631

Резюме. Актуальність. Бронхіальна астма (БА) у дітей посідає провідне місце у структурі захворюваності і смертності серед інших алергологічних і atopічних захворювань. Вона може сформуватися у вигляді моноорганичного фенотипу (МОФ), а може і в поліорганному фенотипі (ПОФ) з іншими нозологіями atopічного маршу (АМ) — atopічним дерматитом (АД) та алергічним ринітом/ринокон'юнктивітом (АР/АРК). Цей процес є генетично детермінованим, велику роль у ньому відіграють одонуклеотидні варіації (англ. *single nucleotide variations* — SNV) генів філагрину (FLG), тимічного стромального лімфопоетину (TSLP) та орсумокоїд-1-подібного білка 3 (ORMDL3). **Метою** цього дослідження було виявити вплив комбінацій генотипів SNV rs_7927894 FLG, rs_11466749 TSLP та rs_7216389 ORMDL3 в розвитку МОФ та ПОФ atopічної БА у дітей. **Матеріали та методи.** У дослідженні взяли участь 121 дитина основної та 105 контрольної групи. Критеріями включення до основної групи були вік від 3 до 18 років, клінічно встановлені та лабораторно підтверджені діагнози МОФ БА, ПОФ БА+АР/АРК та АД+АР/АРК+БА. Критеріями включення до контрольної групи були: вік від 3 до 18 років, виключені діагнози БА, БА+АР/АРК та АД+АР/АРК+БА. Усім дітям було проведено зскрібок слизової оболонки рота та полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі з отриманим матеріалом на виявлення варіантів генотипних комбінацій rs_7927894 FLG, rs_11466749 TSLP та rs_7216389 ORMDL3. Отримані результати були оброблені за допомогою наступних статистичних інструментів: регресійного логістичного аналізу з визначенням відношення шансів (ВШ) з 95% довірчим інтервалом (95% ДІ), ROC-аналізу з визначенням площі під кривою та специфічності (Sp) і чутливості (Se), коефіцієнта кореляції Пірсона (r), точного критерію Фішера (ТКФ), коефіцієнта вірогідності Стьюдента. Значенням вірогідності було встановлено $p < 0,05$, тенденції до вірогідності — $p = 0,05-0,1$. **Результати.** Структура вірогідно найчастіших генотипів у когортах основної групи була такою: C/T rs_7927894 FLG + C/T rs_7216389 ORMDL3 — БА = 8,7%; C/T rs_7927894 FLG + T/T rs_7216389 ORMDL3: БА = 21,7%, БА+АР/АРК = 18,1%, АД+АР/АРК+БА = 15,4%; C/T rs_7927894 FLG + A/A rs_11466749 TSLP: БА+АР/АРК = 31,9%, АД+АР/АРК+БА = 42,3%. Далі наведені показники впливу генотипних комбінацій на ризик розвитку фенотипів БА щодо контрольної групи. МОФ БА: C/T rs_7927894 FLG + T/T rs_7216389 ORMDL3: $r = 0,299$, ВШ = 9,44 (95% ДІ 2,07–43,03), $AUC = 0,594$ (0,507–0,682), $Se/Sp = 21,7/97,1\%$ ($p < 0,001$). ПОФ БА+АР/АРК: C/T rs_7927894 FLG + A/A rs_11466749 TSLP: $r = 0,136$, ВШ = 1,88 (95% ДІ 0,94–3,74), $AUC = 0,560$ (0,493–0,626), $Se/Sp 31,9/80,0\%$ ($p = 0,071$); C/T rs_7927894 FLG + T/T rs_7216389 ORMDL3: $r = 0,260$, ВШ = 7,49 (95% ДІ 2,05–27,37), $AUC = 0,576$ (0,528–0,624), $Se/Sp = 18,1/97,1\%$ ($p < 0,001$). ПОФ АД+АР/АРК+БА: C/T rs_7927894 FLG + A/A rs_11466749 TSLP: $r = 0,207$, ВШ = 2,93 (95% ДІ 1,18–7,31), $AUC 0,612$ (0,507–0,716), $Se/Sp = 42,3/80,0\%$ ($p < 0,05$); C/T rs_7927894 FLG + C/T rs_7216389 ORMDL3: $r = 0,173$, ВШ = 2,50 (95% ДІ 0,99–6,30), $AUC = 0,592$ (0,489–0,695), $Se/Sp = 38,5/80,0\%$ ($p < 0,05$); C/T rs_7927894 FLG + T/T rs_7216389 ORMDL3: $r = 0,222$, ВШ = 6,18 (95% ДІ 1,29–29,6), $AUC = 0,563$ (0,490–0,635), $Se/Sp = 15,4/97,1\%$ ($p < 0,01$). Відношення асоціації та ризиків розвитку фенотипів один щодо одного: БА+АР/АРК щодо БА: C/T rs_7927894 FLG + C/T rs_7216389 ORMDL3: $r = 0,171$, ВШ = 3,50 (95% ДІ 0,75–16,41), $AUC = 0,582$ (0,504–0,659),



© 2023. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Дитятковський Володимир Олександрович, лікар-педіатр, кандидат медичних наук, доцент кафедри педіатрії 1 та медичної генетики, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: ditiatkovskyvo@gmail.com; тел.: +380 (67) 565-48-49
For correspondence: Volodymyr Dytiatkovskyy, Pediatrician, PhD, Associate Professor at the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Vernadsky st., 9, Dnipro, 49044, Ukraine; e-mail: ditiatkovskyvo@gmail.com; phone: +380 (67) 565-48-49

Full list of authors information is available at the end of the article.

$Se/Sp = 25,0/91,3\%$ ($p = 0,095$). АД+АР/АРК+БА щодо БА: C/T rs_7927894 FLG + C/T rs_7216389 ORMDL3: $r = 0,345$, ВШ = 6,56 (95% ДІ 1,26–34,23), AUC = 0,649 (0,537–0,761), $Se/Sp = 38,5/91,3\%$ ($p < 0,05$); C/T rs_7927894 FLG + A/A rs_11466749 TSLP: $r = 0,270$, ВШ = 3,48 (95% ДІ 0,92–13,17), AUC = 0,625 (0,500–0,750), $Se/Sp = 42,3/82,6\%$ ($p = 0,059$). **Висновки.** МОФ БА має вірогідну асоціацію з підвищеним ризиком розвитку при генотипній комбінації C/T rs_7927894 FLG + T/T rs_7216389 ORMDL3. ПОФ БА+АР/АРК має значимі асоціації з підвищеними ризиками розвитку при наступних генотипних комбінаціях: C/T rs_7927894 FLG + A/A rs_11466749 TSLP та C/T rs_7927894 FLG + T/T rs_7216389 ORMDL3. ПОФ АД+АР/АРК+БА має найбільше асоціації з підвищеними ризиками розвитку при наступних генотипних комбінаціях SNV: C/T rs_7927894 FLG + A/A rs_11466749 TSLP, C/T rs_7927894 FLG + C/T rs_7216389 ORMDL3, C/T rs_7927894 FLG + T/T rs_7216389 ORMDL3.

Ключові слова: бронхіальна астма; фенотипи; діти; однонуклеотидні варіації; філагрин; тимічний стромальний лімфоцит; орсумукоїд-1-подібний білок 3

Вступ

Бронхіальна астма (БА) посідає провідне місце за тяжкістю перебігу та впливом на якість життя дітей серед інших алергічних захворювань. Вона є найтяжчою нозологією atopічної триади або atopічного маршруту (АМ), який складається з atopічного дерматиту (АД), алергічного риніту/ринокон'юнктивіту (АР/АРК). Вона не є найпоширенішою хворобою з усіх atopічних, проте завдає найбільшої шкоди здоров'ю дитини та її академічній успішності й загальній якості життя. Поширеність БА серед дитячого населення України становить від 0,5 до 0,6 %, і цей показник свідчить про гіподіагностику БА, аналогічні дані закордонних джерел свідчать про поширеність на рівні 5–10 % [1].

Натепер загальноприйнятим є факт сильного генетичного підґрунтя БА [2], дослідження якого дозволить краще зрозуміти та керувати механізмами її патогенезу. Дослідження на близнюках довели роль генотипу в розвитку БА на рівні 35–95 % [3]. Це, зокрема, дослідження причинних генетичних локусів та їх однонуклеотидних варіантів (англ. single nucleotide variants — SNV). Провідним методом вивчення вищезазначеного є пангеномні дослідження асоціацій різних SNV з порівнянням патернів ДНК хворих на БА з патернами ДНК фенотипово здорових людей в одних і тих самих популяціях [4].

Дослідження останніх трьох десятиріч виявили близько 417 генів, патологічні зміни яких асоційовані з розвитком БА [1, 5–7]. Ще у 2007 році Мофат та ін. в одному з перших пангеномних досліджень асоціацій (ПГДА) визначили SNV rs7216389 ORMDL3 хромосомного регіону (локусу) 17q21.1-q21.2 як один з найсильніше асоційованих з БА з дебютом у дитячому віці [7]. Трьома роками пізніше GABRIEL Consortium, складений з більшості учасників попереднього дослідження, визначив асоціацію генів ORMDL/GSDMB (rs2305480) локусу 17q21 з розвитком БА дитячого віку [9]. У іншому дослідженні було вказано на часткове визначення генів, відповідальних за БА з початком у дитячому віці, — 123 варіанти, та у дорослому віці — 56 варіантів, з перехресним обумовленням у 37 генах [10].

Проте тільки у 2014 році з'явився метааналіз ПГДА з метою виявлення SNV, які зумовлюють виникнення як моноорганного фенотипу (МОФ) БА, так й її поліорганного фенотипу (ПОФ) у поєднанні з сінною лихоманкою або АР/АРК [11]. Його результатами

стали виявлені асоціації та зв'язки з фенотипами БА: для МОФ БА це SNV гасдерміну А та тимічного стромального лімфоциту; для ПОФ БА з АР/АРК — це С-алель rs62026376 та rs41295115 біля локусу IL2RA та rs76043829 у локусі TNS1. В інших дослідженнях були виявлені гени з перехресним впливом на ризик розвитку БА та її поєднання з АД та АР/АРК [12]. У тому ж дослідженні M. Ferreira et al. було визначено роль SNV причинних генів у розвитку різних фенотипів atopічних хвороб окремо — 15 % для БА, 22 % для АР/АРК та 9 % для АД. Йохансон та ін. провели одне з перших досліджень, яке виявило SNV з перехресним впливом на комбінований фенотип БА та АР/АРК і АД — SMAD7, KLF2 та RIN3, деякі з яких були асоційовані з рівнями IgE та еозинофілії в крові [13]. Інше дослідження підтвердило роль мутацій з втратою функції гена філагрину в незалежному розвитку МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК/АД — c.2282del4, p.R501X, p.R447X та p.S3247X [14]. Ці мутації обумовлюють схильність до розвитку АД у ранньому дитячому віці з наступним розвитком АР/АРК та БА в рамках прогресування АМ [13, 14].

У власних дослідженнях був вивчений вплив генотипних варіантів SNV rs_7927894 гена FLG, rs_11466749 гена TSLP і rs_7216389 гена ORMDL3 на розвиток фенотипів АМ на основі БА. Так, у роботі з вивчення SNV rs_7216389 ORMDL3 визначені ризики розвитку МОФ БА — 2,97 (95% ДІ 1,08–8,14, $p < 0,01$) та БА+АР/АРК — 3,34 (95% ДІ 1,63–6,82, $p < 0,01$) [15]. У більш ранньому дослідженні встановлені ризики розвитку МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК щодо інших фенотипів АМ при носійстві SNV rs7927894 гена філагрину (FLG) та rs10052957 гена глюкокортикоїдних рецепторів людини підродино 3, групи С, члена 1 (NR3C1) [16]. Так, було встановлено: генотип C/C rs7927894 FLG збільшує ризик розвитку МОФ БА щодо ПОФ БА+АР/АРК до 2,82 раза (1,0–8,10, $p = 0,05$), генотип G/G rs10052957 NR3C1 вірогідно знижує ризик розвитку ПОФ БА+АР/АРК щодо АД+АР/АРК до 0,45 раза (0,21–0,97, $p < 0,05$).

Проте в жодному з вищенаведених досліджень не визначено комбінацій генотипних варіантів декількох генів, які дадуть змогу більш точно прогнозувати ризики розвитку різних фенотипів АМ.

Тому метою цього дослідження було вивчення ролі комбінацій генотипів SNV rs_7927894 гена FLG, rs_11466749 гена TSLP і rs_7216389 гена ORMDL3 у ризику розвитку БА-асоційованих фенотипів АМ у дітей.

Матеріали та методи

Дослідження проводилося на 2 групах дітей — основній і контрольній. Основна група складалася зі 121 дитини, які були хворі на 3 фенотипи АМ: МОФ БА — 23 пацієнти, ПОФ БА+АР/АРК — 72 пацієнти та БА+АД+АР/АРК — 26 пацієнтів. Контрольну групу становили 105 дітей, здорових щодо atopічних хвороб і хворих на патологію системи органів травлення (гастрит, дуоденіт, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки, функціональні розлади біліарної системи). Віковими критеріями набору в групи дослідження був діапазон від 3 до 18 років. Когорти дітей з МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК використовувались як групи порівняння для визначення ризиків розвитку повного ПОФ БА+АД+АР/АРК. Перед початком дослідження батьки або інші законні представники пацієнтів-дітей підписали добровільну інформовану згоду на медичне обстеження і лікування згідно з Гельсінською декларацією з прав людини (Генеральна асамблея № 64 Всесвітньої медичної асоціації, Форталеза, Бразилія, 2013 р.) та Універсальною декларацією з біоетики та прав людини (ЮНЕСКО, Париж, Франція, 2005 р.).

Відбір і набір до основної групи дослідження проводилися на базі кафедри педіатрії 1 та медичної генетики Дніпровського державного медичного університету (на момент дослідження — ДЗ «Дніпровська державна медична академія МОЗ України»), консультативно-діагностичного та стаціонарного відділень КНП «Клінічна лікарня швидкої медичної допомоги Дніпровської міської ради». Відбір і набір до контрольної групи здійснений на базі відділення гастроентерології дитячого стаціонару КНП «Міська клінічна лікарня № 1 Дніпровської міської ради».

Матеріал для генотипування пацієнтів груп дослідження був отриманий заборою мазка слизової оболонки порожнини рота з послідовним заморожуванням при температурі -32°C та транспортуванням (зі збереженням температурного ланцюга) до лабораторії відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Визначення генотипів за досліджуваними SNV проводилося методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному

часі з обмеженою довжиною фрагмента поліморфізму (qPCR). Для цього були застосовані сертифіковані набори праймерів C__3243267_10, C__31152869_10 та C__29062108_10 (TaqMan™), які додавалися у спеціалізований аналізатор ампліфікації Applied Biosystems 7500 після виділення супернатанту ДНК зі зразків матеріалу. Відповідно до вказаних праймерів визначалися генотипні варіанти С/С, С/Т та Т/Т rs_7927894 гена *FLG*, А/А, А/Г та Г/Г rs_11466749 гена *TSLP* і С/С, С/Т та Т/Т rs_7216389 гена *ORMDL3*.

Статистична обробка отриманих даних проведена за допомогою статистичних програм Statistica v.6.1 (ліцензійний № AGAR909E415822FA, Statsoft Inc., США) та MedCalc Software trial version 22.003 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2023). Результати розподілу за віком та статтю наведені у вигляді абсолютних та відносних величин (N, %). Асоціації між досліджуваними SNV rs_7927894 *FLG*, rs_11466749 *TSLP* і rs_7216389 *ORMDL3* визначені за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона (r). Для визначення ризиків виникнення фенотипів БА, БА+АР/АРК та БА+АД+АР/АРК щодо контрольної групи та один щодо одного застосований логістичний регресійний аналіз з визначенням відношення шансів (ВШ) з 95% довірчим інтервалом (95% ДІ). Для деталізації прогностичної цінності отриманих показників ВШ (95% ДІ) додатково був застосований аналіз receiver operator characteristics (ROC-аналіз) з визначенням площі під кривою на графіку (англ. area under the curve — AUC) та показників специфічності (Sp) і чутливості (Se). Вірогідність різниці отриманих даних між групами дослідження перевірялася за допомогою критеріїв хі-квадрат Пірсона (χ^2) для когорт більше 5 пацієнтів та точного критерію Фішера (ТКФ) для когорт менше 5 пацієнтів. Порогом статистичної вірогідності було визначено $p < 0,05$, тенденції до статистичної вірогідності — $p = 0,05-0,1$.

Результати

Розподіл за віком і статтю наведений у табл. 1 та 2.

З табл. 1 видно, що частота виникнення ПОФ БА+АР/АРК та БА+АД+АР/АРК вірогідно збільшу-

Таблиця 1. Структура вікового розподілу за фенотипами основної та контрольної груп

Фенотип		Вік, роки				Статистична значущість відмінностей між групами (p)*			
		0–3	4–6	7–11	12–18	БА	БА+АР/АРК	АД+АР/АРК+БА	Контрольна
БА	N	0	6	12	5	–	< 0,05	< 0,01	< 0,05
	%	0,0	26,1	52,2	21,7				
БА+АР/АРК	N	1	5	28	38	< 0,05	–	> 0,05	> 0,05
	%	1,4	6,9	38,9	52,8				
БА+АД+АР/АРК	N	2	0	10	14	< 0,01	> 0,05	–	> 0,05
	%	7,7	0,0	38,5	53,8				
Контрольна група	N	2	14	32	57	< 0,05	> 0,05	> 0,05	–
	%	1,9	13,3	30,5	54,3				

Примітка: * — за критерієм χ^2 .

ється щодо базового МОФ БА зі збільшенням віку від раннього до дошкільного і шкільного.

Згідно з даними табл. 2, вірогідні статеві відмінності з контрольною групою мали пацієнти з фенотипами БА та БА+АР/АРК — хлопчики хворіють на вищезгадані фенотипи БА більше ніж в 3 рази частіше, ніж дівчатка.

В табл. 3 наведена зустрічальність генотипних варіантів rs_7927894 *FLG*, rs_11466749 *TSLP* і rs_7216389 *ORMDL3* при досліджуваних фенотипах та в контрольній групі.

З табл. 3 видно, що вірогідні відмінності з контрольною групою дітей без atopії були зафіксовані у носіїв наступних SNV: С/Т rs_7927894 *FLG* при ПОФ БА+АР/АРК, С/С та С/Т rs_7927894 *FLG* при повному ПОФ БА+АД+АР/АРК; А/А та А/Г rs_11466749 *TSLP* для ПОФ БА+АР/АРК та БА+АД+АР/АРК; Т/Т для МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК rs_7216389 *ORMDL3*, а також С/С rs_7216389 *ORMDL3* для ПОФ БА+АР/АРК.

В табл. 4 подано дані комбінованих генотипів, які мають найчастішу частоту при фенотипах АМ у дітей.

Дані табл. 4 демонструють вірогідний вплив комбінованого генотипу С/Т rs_7927894 *FLG* + С/Т rs_7216389 *ORMDL3* на ПОФ БА+АР/АРК, С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3* — на МОФ БА, ПОФ БА+АР/АРК та БА+АД+АР/АРК, С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP* — на ПОФ БА+АР/АРК та БА+АД+АР/АРК. У табл. 5 наведено результати обчислення асоціацій та впливу вказаних генотипних комбінацій на ризики розвитку МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК і БА+АД+АР/АРК.

Обговорення

У цій дослідницькій роботі вперше в Україні відображений вплив комбінованих генотипів С/Т rs_7927894 *FLG* + С/Т rs_7216389 *ORMDL3*, С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3* та С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP* на шанси (ри-

Таблиця 2. Структура статевого розподілу пацієнтів основної та контрольної груп

Фенотип		Стать		Разом
		Жіноча	Чоловіча	
БА	N	5	18	23
	%	21,7**	78,3**	100,0
БА+АР/АРК	N	17	55	72
	%	23,6*	76,4*	100,0
АД+АР/АРК+БА	N	7	19	26
	%	26,9***	73,1***	100,0
Контрольна група	N	42	63	105
	%	40,0	60,0	100,0

Примітки: * — $p < 0,05$; ** — $p = 0,099$; *** — $p > 0,05$ порівняно з контрольною групою за критерієм χ^2 .

Таблиця 3. Структура SNV rs_7927894 *FLG*, rs_11466749 *TSLP* і rs_7216389 *ORMDL3* серед пацієнтів основної та контрольної груп

Фенотип		rs_7927894 <i>FLG</i>			rs_11466749 <i>TSLP</i>			rs_7216389 <i>ORMDL3</i>		
		С/С	С/Т	Т/Т	А/А	А/Г	Г/Г	С/С	С/Т	Т/Т
БА	N	12	9	2	12	9	2	4	11	8
	%	52,2	39,1	8,7	52,2	39,1	8,7	17,4	47,8	34,8
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
БА+АР/АРК	N	28	34	10	47	23	2	10	35	27
	%	38,9	47,2	13,9	65,3	31,9	2,8	13,9	48,6	37,5
	p	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	0,066	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,001
АД+АР/АРК+БА	N	8	16	2	20	3	3	4	17	5
	%	30,8	61,5	7,7	77,0	11,5	11,5	15,4	65,4	19,2
	p	0,086	< 0,01	> 0,05	< 0,05	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Контрольна група	N	52	34	19	53	48	4	29	60	16
	%	49,5	32,4	18,1	50,5	45,7	3,8	27,6	57,1	15,2

Примітка: p — статистична вірогідність відмінностей порівняно з контрольною групою за критерієм χ^2 (* — за критерієм ТКФ).

зики) розвитку фенотипів АМ, асоційованих з БА як базовою нозологією. В інших пангеномних дослідженнях, незважаючи на більші за розміром когорти і спектр дослідження, фокусувалися на ролі окремих генів у розвитку АЗ. Так, пангеномне дослідження на 12 європейських популяціях, проведене I. Marenholz та ін., визначило нові SNV-локуси, відповідальні за розвиток комбінованого ПОФ АД+БА, — це rs9357733 гена *EFHC1* на хромосомі 6p12.3 (ВШ 1,27; $p = 2,1 \times 10^{-8}$) та rs993226 між *TMT2* і *SLC6A15* на хромосомі 12q21.3 (ВШ 1,58; $p = 5,3 \times 10^{-9}$) [17]. Обмеженням цієї роботи є предикція розвитку загального ПОФ БА+ щодо моногенотипу того чи іншого SNV. У власному же

дослідженні вказані комбінації генотипів, які відповідальні за розвиток різних за комбінацією нозологій фенотипів БА. У власному дослідженні також показані ризики розвитку БА-асоційованих фенотипів у дітей залежно від носійства комбінацій SNV: збільшений до 9,44 раза (95% ДІ 2,07–43,03, $p < 0,001$) для МОФ БА при С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3*; збільшений до 1,88 раза (95% ДІ 0,94–3,74, $p = 0,071$) для ПОФ БА+АР/АРК при С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP* та до 7,49 раза (95% ДІ 2,05–27,37, $p < 0,001$) для С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3*; збільшені ризики розвитку повного ПОФ БА+АД+АР/АРК: до 2,93 раза (95% ДІ 1,18–7,31,

Таблиця 4. Структура комбінованих генотипів серед пацієнтів основної та контрольної груп

Фенотип		Поєднання		
		С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + С/Т rs_7216389 <i>ORMDL3</i>	С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + Т/Т rs_7216389 <i>ORMDL3</i>	С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + А/А rs_11466749 <i>TSLP</i>
БА	N	2	5	4
	%	8,7	21,7	17,4
	p	> 0,05	< 0,01*	> 0,05
БА+АР/АРК	N	18	13	23
	%	25,0	18,1	31,9
	p	> 0,05	< 0,001*	0,071
АД+АР/АРК+БА	N	10	4	11
	%	38,5	15,4	42,3
	p	< 0,05	< 0,05*	< 0,05
Контрольна група	N	21	3	21
	%	20,0	2,9	20,0

Примітка: p — статистична вірогідність порівняно з контрольною групою за критерієм χ^2 (* — за ТКФ).

Таблиця 5. Статистичні параметри впливу SNV rs_7927894 *FLG*, rs_11466749 *TSLP* і rs_7216389 *ORMDL3* на розвиток БА-асоційованих фенотипів у дітей

Генотип	Кореляційний аналіз	Логістичний регресійний аналіз		ROC-аналіз		
	r (p)	Ризик*	ВШ (95% ДІ)	AUC (95% ДІ)	p1	Se/Sp (%)
МОФ БА						
С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + Т/Т rs_7216389 <i>ORMDL3</i>	0,299 (p < 0,001)	↑	9,44 (2,07–43,03)	0,594 (0,507–0,682)	0,035	21,7/97,1
ПОФ БА+АР/АРК						
С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + А/А rs_11466749 <i>TSLP</i>	0,136 (p = 0,071)	↑	1,88 (0,94–3,74)	0,560 (0,493–0,626)	0,078	31,9/80,0
С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + Т/Т rs_7216389 <i>ORMDL3</i>	0,260 (p < 0,001)	↑	7,49 (2,05–27,37)	0,576 (0,528–0,624)	0,002	18,1/97,1
ПОФ АД+АР/АРК+БА						
С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + А/А rs_11466749 <i>TSLP</i>	0,207 (p < 0,05)	↑	2,93 (1,18–7,31)	0,612 (0,507–0,716)	0,036	42,3/80,0
С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + С/Т rs_7216389 <i>ORMDL3</i>	0,173 (p < 0,05)	↑	2,50 (0,99–6,30)	0,592 (0,489–0,695)	0,078	38,5/80,0
С/Т rs_7927894 <i>FLG</i> + Т/Т rs_7216389 <i>ORMDL3</i>	0,222 (p < 0,01)	↑	6,18 (1,29–29,6)	0,563 (0,490–0,635)	0,090	15,4/97,1

$p < 0,05$) для С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP*, до 2,50 раза (95% ДІ 0,99–6,30, $p < 0,05$) для С/Т rs_7927894 *FLG* + С/Т rs_7216389 *ORMDL3* та до 6,18 раза (95% ДІ 1,29–29,6, $p < 0,05$) для С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3*. Метааналіз 2018 року, виконаний F. Demenias та ін., визначив 2 нові та підтвердив 9 існуючих асоціацій для комбінованого фенотипу «астма + сінна лихоманка» [18]. Незважаючи на принципову відмінність між проведеним власним дослідженням і цим метааналізом (23 948 випадків БА та БА з АР/АРК, 118 538 пацієнтів контрольної групи), є деякі схожі результати. Так, у власному дослідженні були визначені асоціації слабкої і середньої сили між комбінаціями причинних (підтверджених) генотипів та моно- і поліорганными фенотипами на основі БА. Зокрема, це: МОФ БА та С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3* — 0,299 ($p < 0,001$); для ПОФ БА+АР/АРК це С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP* — 0,136 ($p = 0,071$) та С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3* — 0,260 ($p < 0,001$); для ПОФ БА+АД+АР/АРК це: С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP* — 0,207 ($p < 0,05$), С/Т rs_7927894 *FLG* + С/Т rs_7216389 *ORMDL3* — 0,173 ($p < 0,05$) і С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3* — 0,222 ($p < 0,01$). У тому ж дослідженні було вказано на локус *ORMDL3/GSDMB* як відповідальний за розвиток фенотипу «астма та сінна лихоманка», що взагалі збігається з результатами власного дослідження. У дослідженні Andiappan та ін. (2016) було показано, що локус 17q12-21 має вплив на розвиток БА, а не АР; зокрема, це SNV rs8076131, який вражає експресію *ORMDL3*, субодиниці 1Б регуляторного інгібітора протеїнової фосфатази 1, зв'язуючого протеїну 2 та гасдерміну Б блискучої зони яйцеклітини, та корелює з підвищеними рівнями IgE й еозинофілією [19]. У нашому дослідженні доведені патологічні впливи SNV rs_7216389 *ORMDL3* у комбінації з іншими SNV, які підвищують ризик розвитку як МОФ БА, так і її комбінацій з АР/АРК та АД. Відмінність і нерівномірність зв'язків пояснюються різним національним і кількісним складом вищевказаних досліджень — українські діти у меншій кількості та дорослі етнічно китайські пацієнти у згаданій роботі. Окремим питанням є невисока чутливість отриманих результатів для генотип-комбінацій при усіх БА-асоційованих фенотипах БА — його вирішення, на нашу думку, полягає у збільшенні SNV генів-кандидатів у генотип-панелях і збільшенні чисельності та етнічній стратифікації пацієнтів з АМ та різними фенотипами БА.

Висновки

МОФ БА вірогідно асоційований та виникає з підвищеним до 9,44 раза ризиком при носійстві генотипної комбінації С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3*. ПОФ БА+АР/АРК значимо асоційований з підвищеними ризиками розвитку при носійстві наступних генотипних комбінацій: до 1,88 раза при С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP* та до 7,49 раза при С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3*. ПОФ БА+АД+АР/АРК вірогідно асоційований з

підвищеними ризиками розвитку при носійстві наступних генотипних комбінацій: до 2,93 раза при С/Т rs_7927894 *FLG* + А/А rs_11466749 *TSLP*, до 2,50 раза при С/Т rs_7927894 *FLG* + С/Т rs_7216389 *ORMDL3* та до 6,18 раза при С/Т rs_7927894 *FLG* + Т/Т rs_7216389 *ORMDL3*. Для підвищення чутливості отриманих генотип-панелей потрібне продовження вивчення максимального спектра SNV, відповідальних за розвиток БА-асоційованих фенотипів АМ, та великі мульти-центрові поліетнічні когорти досліджень.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Інформація про фінансування. Ця робота є фрагментом дослідження кафедри педіатрії 1 та медичної генетики Дніпровського державного медичного університету «Прогнозування розвитку дитячих захворювань, асоційованих з цивілізацією» (державний реєстраційний № 0120U101324) відповідно до бюджетної програми (КПВК 2301020 — «Наукова та науково-технічна діяльність у галузі охорони здоров'я»), що фінансується з державного бюджету Міністерством охорони здоров'я України.

Внесок авторів. Дитятковський В.О. — концепція, набір хворих у дослідження, первинна та статистична обробка отриманих даних, набір тексту, критичне рецензування написаного матеріалу, підготовка та відправка статті на публікацію; Кривуша О.Л. — набір хворих у дослідження, набір тексту, критичне рецензування написаного матеріалу, підготовка та відправка статті на публікацію; Токарева Н.М. — набір тексту, критичне рецензування написаного матеріалу, підготовка та відправка статті на публікацію.

References

- Banadyha NV, Voloshyn SB. Genetic markers, which define the occurrence and course of bronchial asthma in children. *Sovremennaya pediatriya*. 2016.2(74):100-104. doi:10.15574/SP.2016.74.100. (in Ukrainian).
- Ntontsi P, Photiades A, Zervas E, Xanthou G, Samitas K. Genetics and Epigenetics in Asthma. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 27;22(5):2412. doi:10.3390/ijms22052412.
- Ullemar V, Magnusson PK, Lundholm C, et al. Heritability and confirmation of genetic association studies for childhood asthma in twins. *Allergy*. 2016 Feb;71(2):230-238. doi:10.1111/all.12783.
- Mammen JR, Arcoleo K. Understanding the genetics of asthma and implications for clinical practice. *J Am Assoc Nurse Pract*. 2019 Jul;31(7):384-387. doi:10.1097/JXX.0000000000000246.
- Volosovets OO, Dosenko VYe, Kryvopustov SP, Pavlyk OV, Yeemets OV, Stroi DO. Significance of single-nucleotide polymorphisms in *mTOR* (rs11204981) and *ATG5* (rs510432) genes in allergic diseases in children. *Zdorov'e rebenka*. 2015;(63):5-11. doi:10.22141/2224-0551.3.63.2015.75177. (in Ukrainian).
- Kmyta V, Orlovskiy V, Prystupa L, Prystupa E. *Bcl1* polymorphism of glucocorticoids receptor gene and bronchial asthma. *Georgian Med News*. 2015 Mar;(240):51-55.
- Pividori M, Schoettler N, Nicolae DL, Ober C, Im HK. Shared and distinct genetic risk factors for childhood-onset and adult-onset asthma.

ma: genome-wide and transcriptome-wide studies. *Lancet Respir Med.* 2019 Jun;7(6):509-522. doi:10.1016/S2213-2600(19)30055-4.

8. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, et al. Genetic variants regulating *ORMDL3* expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature.* 2007 Jul 26;448(7152):470-473. doi:10.1038/nature06014.

9. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N Engl J Med.* 2010 Sep 23;363(13):1211-1221. doi:10.1056/NEJMoa0906312.

10. Ferreira MAR, Mathur R, Vonk JM, et al. Genetic Architectures of Childhood- and Adult-Onset Asthma Are Partly Distinct. *Am J Hum Genet.* 2019 Apr 4;104(4):665-684. doi:10.1016/j.ajhg.2019.02.022.

11. Ferreira MA, Matheson MC, Tang CS, et al. Genome-wide association analysis identifies 11 risk variants associated with the asthma with hay fever phenotype. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Jun;133(6):1564-1571. doi:10.1016/j.jaci.2013.10.030.

12. Ferreira MA, Vonk JM, Baurecht H, et al. Shared genetic origin of asthma, hay fever and eczema elucidates allergic disease biology. *Nat Genet.* 2017 Dec;49(12):1752-1757. doi:10.1038/ng.3985.

13. Johansson Å, Rask-Andersen M, Karlsson T, Ek WE. Genome-wide association analysis of 350000 Caucasians from the UK Biobank identifies novel loci for asthma, hay fever and eczema. *Hum Mol Genet.* 2019 Dec 1;28(23):4022-4041. doi:10.1093/hmg/ddz175.

14. Esparza-Gordillo J, Matanovic A, Marenholz I, et al. Maternal filaggrin mutations increase the risk of atopic dermatitis in children: an effect independent of mutation inheritance. *PLoS Genet.* 2015 Mar 10;11(3):e1005076. doi:10.1371/journal.pgen.1005076.

15. Dytiatkovskiy VO. Personalized genotype-associated diagnosis of the progression of atopic march in children. *Zdorov'e rebenka.*

2023;18(5):42-50. doi:10.22141/2224-0551.18.5.2023.1614. (in Ukrainian).

16. Dityatkovskiy VO, Naumenko NV, Alifirenko OO, et al. Single nucleotide variants of filaggrin and glucocorticoid receptors genes in children suffering different phenotypes of atopic diseases. *Med perspekt.* 2022;27(1):132-139. doi:10.26641/2307-0404.2022.1.254378. (in Ukrainian).

17. Marenholz I, Esparza-Gordillo J, Rüschenhoff F, et al. Meta-analysis identifies seven susceptibility loci involved in the atopic march. *Nat Commun.* 2015 Nov 6;6:8804. doi:10.1038/ncomms9804.

18. Demenais F, Margartite-Jeannin P, Barnes KC, et al. Multi-ancestry association study identifies new asthma risk loci that colocalize with immune-cell enhancer marks. *Nat Genet.* 2018 Jan;50(1):42-53. doi:10.1038/s41588-017-0014-7.

19. Andiappan AK, Sio YY, Lee B, et al. Functional variants of 17q12-21 are associated with allergic asthma but not allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Mar;137(3):758-66.e3. doi:10.1016/j.jaci.2015.08.038.

Отримано/Received 05.08.2023

Рецензовано/Revised 19.09.2023

Прийнято до друку/Accepted 29.09.2023 ■

Information about authors

V.O. Dytiatkovskiy, Pediatrician, PhD, Associate Professor at the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; e-mail: ditiatkovskiyvo@gmail.com; phone: +380 (67) 565-48-49; <https://orcid.org/0000-0002-8508-5562>

O.L. Krivusha, PhD, Associate Professor at the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; e-mail: e.krivusha@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-2095-5504>

N.M. Tokareva, PhD, Assistant at the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; e-mail: natmix2008@ukr.net

Conflicts of interests. Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.

Information about funding. This work is a fragment of the research of the Department of Pediatrics 1 and Medical Genetics of the Dnipro State Medical University "Predicting the development of childhood diseases of civilization" (state registration number 0120U101324) in accordance with the budget program (CPCEC 2301020 — "Scientific and scientific and technical activities in the field of health care"), financed from the state budget by the Ministry of Health of Ukraine.

Authors' contribution. V.O. Dytiatkovskiy — concept, recruitment of patients, primary and statistical processing of the obtained data, typing the text, critical review of the written material, preparation and submission of the article for publication; O.L. Krivusha — recruitment of patients, typing the text, critical review of the written material, preparation and submission of the article for publication; N.M. Tokareva — typing the text, critical review of the written material, preparation and submission of the article for publication.

V.O. Dytiatkovskiy, O.L. Krivusha, N.M. Tokareva
Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine

Development of monoorganic and polyorganic phenotypes of bronchial asthma in children: the role of combined single-nucleotide variants

Abstract. Background. Bronchial asthma (BA) in children is on one of the leading places in the morbidity and mortality structure among other allergic and atopic diseases. It can be developed in the form of a monoorganic phenotype (MOPh) or a polyorganic phenotype (POPh) with other nosologies of atopic march (AM): atopic dermatitis (AD) and allergic rhinitis/rhinoconjunctivitis (AR/ARC). This process is genetically determined, with single-nucleotide variants (SNV) of filaggrin (*FLG*), thymic stromal lymphopoietin (*TSLP*) and orsomucoid-like protein 3 (*ORMDL3*) genes playing a major role. The purpose of this study was to reveal the impact of rs_7927894 *FLG*, rs_11466749 *TSLP* and rs_7216389 *ORMDL3* SNV genotype combinations in the deve-

lopment of MOPh and POPh of atopic BA in children. **Materials and methods.** One hundred and twenty-one children of the main group and 105 controls took part in the study. The criteria for inclusion into the main group were: age from 3 to 18 years, clinically established and laboratory confirmed diagnoses of MOPh BA, POPh BA + AR/ARC and AD + AR/ARC + BA. The criteria for inclusion in the control group were: age from 3 to 18 years, excluded diagnoses of BA, BA + AR/ARC and AD + AR/ARC + BA. All children underwent swabbing of the oral mucosa and real-time polymerase chain reaction with the obtained material to detect variants of rs_7927894 *FLG*, rs_11466749 *TSLP* and rs_7216389 *ORMDL3* genotype combinations. The results were processed

using the following statistical tools: logistic regression analysis with determination of odds ratio (OR) with 95% confidence interval (95% CI), receiver operating characteristic (ROC) analysis with determination of the area under the ROC curve (AUC), sensitivity (Se), specificity (Sp), Pearson's correlation coefficient (r), Fisher's exact test, Student's t-test. The significance value was set at $p < 0.05$, trend to reliability — at $p = 0.0–0.1$. **Results.** The structure of the significantly most frequent genotypes in the cohorts of the main group was as follows: C/T rs_7927894 *FLG* + C/T rs_7216389 *ORMDL3* — BA = 8.7 %; C/T rs_7927894 *FLG* + T/T rs_7216389 *ORMDL3*: BA = 21.7 %, BA + AR/ARC = 18.1 %, AD + AR/ARC + BA = 15.4 %; C/T rs_7927894 *FLG* + A/A rs_11466749 *TSLP*: BA + AR/ARC = 31.9 %, AD + AR/ARC + BA = 42.3 %. Next, indicators of the genotypic combinations impact on the risk of BA phenotypes development related to the control group are provided. MOPh BA: C/T rs_7927894 *FLG* + T/T rs_7216389 *ORMDL3*: $r = 0.299$, OR = 9.44 (95% CI 2.07–43.03), AUC = 0.594 (0.507–0.682), Se/Sp = 21.7/97.1 % ($p < 0.001$). POPh BA + AR/ARC: C/T rs_7927894 *FLG* + A/A rs_11466749 *TSLP*: $r = 0.136$, OR = 1.88 (95% CI 0.94–3.74), AUC = 0.560 (0.493–0.626), Se/Sp 31.9/80.0 % ($p = 0.071$); C/T rs_7927894 *FLG* + T/T rs_7216389 *ORMDL3*: $r = 0.260$, OR = 7.49 (95% CI 2.05–27.37), AUC = 0.576 (0.528–0.624), Se/Sp = 18.1/97.1 % ($p < 0.001$). POPh AD + AR/ARC + BA: C/T rs_7927894 *FLG* + A/A rs_11466749 *TSLP*: $r = 0.207$, OR = 2.93 (95% CI 1.18–7.31), AUC 0.612 (0.507–0.716), Se/Sp = 42.3/80.0 % ($p < 0.05$); C/T rs_7927894 *FLG* + C/T rs_7216389 *ORMDL3*: $r = 0.173$, OR = 2.50 (95% CI 0.99–6.30),

AUC = 0.592 (0.489–0.695), Se/Sp = 38.5/80.0 % ($p < 0.05$); C/T rs_7927894 *FLG* + T/T rs_7216389 *ORMDL3*: $r = 0.222$, OR = 6.18 (95% CI 1.29–29.6), AUC = 0.563 (0.490–0.635), Se/Sp = 15.4/97.1 % ($p < 0.01$). The ratio of associations and risks for developing the phenotypes related to each other: BA + AR/ARC related to BA: C/T rs_7927894 *FLG* + C/T rs_7216389 *ORMDL3*: $r = 0.171$, OR = 3.50 (95% CI 0.75–16.41), AUC = 0.582 (0.504–0.659), Se/Sp = 25.0/91.3 % ($p = 0.095$); AD + AR/ARC + BA related to BA: C/T rs_7927894 *FLG* + C/T rs_7216389 *ORMDL3*: $r = 0.345$, OR = 6.56 (95% CI 1.26–34.23), AUC = 0.649 (0.537–0.761), Se/Sp = 38.5/91.3 % ($p < 0.05$); C/T rs_7927894 *FLG* + A/A rs_11466749 *TSLP*: $r = 0.270$, OR = 3.48 (95% CI 0.92–13.17), AUC = 0.625 (0.500–0.750), Se/Sp 42.3/82.6 % ($p = 0.059$). **Conclusions.** MOPh BA has a significant association and an increased risk of development with the SNV genotype combination C/T rs_7927894 *FLG* + T/T rs_7216389 *ORMDL3*. POPh BA + AR/ARC has significant associations and increased risks of development with the following SNV genotype combinations: C/T rs_7927894 *FLG* + A/A rs_11466749 *TSLP* and C/T rs_7927894 *FLG* + T/T rs_7216389 *ORMDL3*. POPh AD + AR/ARC + BA has the most associations and increased risks of development within the following SNV genotype combinations: C/T rs_7927894 *FLG* + A/A rs_11466749 *TSLP*, C/T rs_7927894 *FLG* + C/T rs_7216389 *ORMDL3*, C/T rs_7927894 *FLG* + T/T rs_7216389 *ORMDL3*.

Keywords: bronchial asthma; phenotypes; children; single-nucleotide variants; filaggrin; thymic stromal lymphopoietin; orso-mucoid-like protein 3