

**В.О. ДИТЯТКОВСЬКИЙ**

## **Зв'язок розвитку фенотипів бронхіальної астми в дітей з однонуклеотидними варіантами генів філагрину, тимічного стромального лімфопоетину та орсомукоїд-1-подібного білка 3**

Дніпровський державний медичний університет, Україна

Modern Pediatrics. Ukraine. (2023). 6(134): 98–104. doi 10.15574/SP.2023.134.98

**For citation:** Dytiatkovskiy VO. (2023). Association of bronchial asthma phenotypes in children with single-nucleotide variants of filaggrin, thymic stromal lymphopoietin and orsomucoid-1-like protein 3 genes. Modern Pediatrics. Ukraine. 6(134): 98–104. doi 10.15574/SP.2023.134.98.

Бронхіальна астма (БА) становить найтяжчу форму atopічного маршу (АМ) у дітей, до якого також входять atopічний дерматит (АД), алергічний риніт і ринокон'юнктивіт (АР/АРК). АМ може клінічно маніфестувати моноорганними фенотипами АД, АР/АРК та БА або поліорганними фенотипами АД+АР/АРК, БА+АР/АРК, АД+АР/АРК+БА. Важливими факторами розвитку АМ у дітей є однонуклеотидні варіанти (SNV) генів: rs\_7927894 філагрину (*FLG*), rs\_11466749 тимічного стромального лімфопоетину (*TSLP*) та rs\_7216389 орсомукоїд-1-подібного білка 3 (*ORMDL3*).

**Мета** — вивчити роль різних варіантів rs\_7927894 *FLG*, rs\_11466749 *TSLP* та rs\_7216389 *ORMDL3* у ризиках розвитку фенотипів АМ — БА, БА+АР/АРК та АД+АР/АРК+БА.

**Матеріали та методи.** До дослідження залучено 121 дитину основної та 105 — контрольної груп віком від 3 до 18 років. Когорти основної групи: БА — 23 дитини, БА+АР/АРК — 72 дитини, АД+АР/АРК+БА — 26 дітей. Контрольну групу становили 105 дітей без нозологій АМ. Всім дітям зроблено генотипування методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі на SNV C/T, C/C T/T rs\_7927894 *FLG*, A/A, A/G, G/G rs\_11466749 *TSLP* та C/C, C/T, T/T rs\_7216389 *ORMDL3*. Для статистичної обробки отриманих результатів застосовано методи варіаційної статистики з порогом достовірності на рівні  $p < 0,05$ , тенденції до достовірності —  $p = 0,05 - 0,1$ .

**Результати.** АД+АР/АРК+БА відносно БА+АР/АРК: A/G rs\_11466749 — знижує ризик,  $r = 0,204$ , ВШ=0,28 (0,08–1,0,  $p < 0,05$ ); T/T rs\_7216389 — знижує ризик,  $r = 0,172$ , ВШ=0,40 (0,13–1,17,  $p = 0,09$ ). АД+АР/АРК+БА відносно БА: A/A rs\_11466749 — підвищує ризик,  $r = 0,259$ , ВШ=3,06 (0,9–10,4,  $p = 0,07$ ), A/G rs\_11466749 — знижує ризик,  $r = 0,320$ , ВШ=0,20 (0,05–0,88,  $p < 0,05$ ).

**Висновки.** SNV C/T rs\_7927894 *FLG*, A/A rs\_11466749 *TSLP* та T/T rs\_7216389 *ORMDL3* асоційовані та підвищують ризик розвитку фенотипу БА+АР/АРК в 1,87, 1,84 і 3,34 рази, а C/C rs\_7216389 *ORMDL3* та A/G rs\_11466749 *TSLP* знижують його до 0,42 і 0,56 рази. SNV C/T rs\_7927894 *FLG* та A/A rs\_11466749 *TSLP* асоційовані та підвищують ризик розвитку повного фенотипу АМ АД+АР/АРК+БА у 3,34 і 3,27 рази, а C/C rs\_7927894 *FLG* та A/G rs\_11466749 *TSLP* — асоційовані та знижують його до 0,45 і 0,15 рази. SNV A/A rs\_11466749 *TSLP* асоційований із підвищеним ризиком розвитку АД+АР/АРК+БА відносно БА до 3,06 рази, а SNV A/G rs\_11466749 *TSLP* — асоційований та знижує його до 0,20 рази. SNV A/G rs\_11466749 *TSLP* та T/T rs\_7216389 *ORMDL3* асоційовані та знижують ризик розвитку фенотипу АД+АР/АРК+БА відносно БА+АР/АРК до 0,28 і 0,40 рази, відповідно.

Дослідження виконано згідно з принципами Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення дослідження отримано інформовану згоду батьків, дітей.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Ключові слова:** atopічний марш, діти, бронхіальна астма, поліорганний фенотип, моноорганний фенотип, однонуклеотидні варіанти.

### **Association of bronchial asthma phenotypes in children with single-nucleotide variants of filaggrin, thymic stromal lymphopoietin and orsomucoid-1-like protein 3 genes**

**V.O. Dytiatkovskiy**

Dnipro State Medical University, Ukraine

Bronchial asthma (BA) composes the most severe form of atopіc march (AM) in children, which also includes atopіc dermatitis (AD), allergic rhinitis and rhino-conjunctivitis (AR/ARC). AM can clinically manifest as mono-organ phenotypes of AD, AR/AR and BA or poly-organ phenotypes of AD+AR/ARC, BA+AR/ARC, AD+AR/ARC+BA. Single nucleotide variants (SNVs) of genes: rs\_7927894 of filaggrin (*FLG*), rs\_11466749 of thymic stromal lymphopoietin (*TSLP*) and rs\_7216389 of orsomucoid-1-like protein 3 (*ORMDL3*) are important factors in the development of AM in children.

**The aim** was to study the role of different variants of rs\_7927894 *FLG*, rs\_11466749 *TSLP* and rs\_7216389 *ORMDL3* genotypes in the risks of AM — BA, BA+AR/ARC and AD+AR/ARC+BA phenotypes' development.

**Materials and methods.** 121 children of the main group and 105 of the control group aged from 3 to 18 years were involved in the study. Cohorts of the main group: BA — 23 children, BA+AR/ARC — 72 children, AD+AR/ARC+BA — 26 children. The control group consisted of 105 children without AM nosologies. All children were genotyped by polymerase chain reaction in real time for SNVs C/T, C/C T/T rs\_7927894 *FLG*, A/A, A/G, G/G rs\_11466749 *TSLP* and C/C, C/T, T/T rs\_7216389 *ORMDL3*. For the statistical processing of the obtained results, the methods of variational statistics were applied with the statistical significance threshold at the value of  $p < 0.05$ , trend to significance —  $p = 0.05 - 0.1$ .

**Results.** AD+AR/ARC+BA correlated to BA+AR/ARC: A/G rs\_11466749 — reduces the risk,  $r = 0.204$ , odds ratio (OR)=0.28 (0.08–1.0,  $p < 0.05$ ); T/T rs\_7216389 — reduces the risk,  $r = 0.172$ , OR=0.40 (0.13–1.17,  $p = 0.09$ ). AD+AR/ARC+BA correlated to BA: A/A rs\_11466749 — elevates the risk,  $r = 0.259$ , OR=3.06 (0.9–10.4,  $p = 0.07$ ), A/G rs\_11466749 — reduces the risk,  $r = 0.320$ , OR=0.20 (0.05–0.88,  $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** SNV C/T rs\_7927894 *FLG*, A/A rs\_11466749 *TSLP* and T/T rs\_7216389 *ORMDL3* are associated and elevate the risk of BA+AR/ARC phenotype by 1.87, 1.84 and 3.34 fold, and C/C rs\_7216389 *ORMDL3* and A/G rs\_11466749 *TSLP* reduce it to 0.42 and 0.56 times. SNV C/T rs\_7927894 *FLG* and A/A rs\_11466749 *TSLP* are associated and increase the risk of developing the full AM AD+AR/ARC+BA phenotype by 3.34 and 3.27fold, and C/C rs\_7927894 *FLG* and A/G rs\_11466749 *TSLP* — are associated and reduce it by 0.45 and 0.15 fold. SNV A/A rs\_11466749 *TSLP* is associated with an elevated risk of developing AD+AR/ARC+BA correlated to BA up to 3.06 fold, and SNV A/G rs\_11466749 *TSLP* is associated and reduces it by 0.20 fold. SNV A/G rs\_11466749 *TSLP* and T/T rs\_7216389 *ORMDL3* are associated and reduce the risk of AD+AR/ARC+BA phenotype development correlated to BA+AR/ARC by 0.28 and 0.40 fold, respectively.

The research was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee of the institution mentioned in the work. The informed consent of the parents and the children was obtained for the conducting the study.

No conflict of interests was declared by the author.

**Keywords:** atopіc march, children, bronchial asthma, poly-organ phenotype, mono-organ phenotype, single-nucleotide variants.

## Вступ

**Б**ронхіальна астма (БА) є однією з найбільших проблем сучасної медицини загалом, педіатрії та дитячої алергології зокрема. Базуючись патогенетично на набряку слизової оболонки бронхів, гіперсекреції слизу та спазмі гладенької мускулатури, БА часто має однакову природу з atopічним дерматитом (АД) та алергічним ринітом / алергічним ринокон'юнктивітом (АР/АРК), формуючи так звану atopічну тріаду [14]. Atopічна тріада також називається atopічним маршем (АМ) і являє собою лінійну прогресію від моноорганних фенотипів (МОФ) до поліорганних фенотипів (ПОФ), які становлять комбінації АД, АР/АРК та БА [7,12]. Незважаючи на значну кількість досліджень із механізмів БА, проведених від початку досліджень до цього часу, її генетична складова залишається недостатньо висвітленою. Власні дослідження останніх років вказують на важливу роль у патогенезі фенотипів АМ, які включають у себе БА, однонуклеотидних варіантів (*single nucleotide variants* – SNV), генів філагрину (*FLG*), тимічного стромального лімфопоєтину (*TSLP*) та орсомукоїд-1-подібного білка 3 (*ORMDL3*) [7–9]. Ці дослідження підтверджують складну генетичну природу захворювань АМ, зокрема БА. Так, у дослідженні про роль SNV *FLG* та генів глюкокортикоїдних рецепторів людини вказується на достовірну асоціацію генотипного варіанта С/Т SNV rs7927894 *FLG* та підвищений ризик розвитку ПОФ АД+АР/АРК та повного ПОФ АМ АД+АР/АРК+БА відносно МОФ АР/АРК [7]. У дослідженні ролі SNV *TSLP* від 2021 року зазначається про такі знахідки в генетиці АМ: генотип варіанта А/Г SNV rs11466749 *TSLP* достовірно підвищує ризик розвитку МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК відносно повного ПОФ АМ АД+АР/АРК+БА; у носіїв генотипу А/А SNV rs11466749 *TSLP* із тенденцією до достовірності зменшений ризик розвитку МОФ БА відносно повного ПОФ АМ АД+АР/АРК+БА [8]. Нещодавнє дослідження ролі SNV *ORMDL3* у ризику розвитку нозологій АМ у дітей показує, що генотип Т/Т SNV rs7216389 *ORMDL3* достовірно підвищує ризик розвитку як МОФ АР/АРК, так і ПОФ АД+АР/АРК та БА+АР/АРК [9].

Водночас пангеномні дослідження у світі наводять суперечливі результати дослідження генетики БА. У 2018 р. в одному з таких дослі-

джен на біобанку Великої Британії ідентифіковані близько 30 генних локусів, асоційованих із розвитком БА [19]. Р. Ntonsi та співавт. (2021) вказують на маркери в регіоні гена *ORDML3*, асоційовані з початком БА у дитячому віці, тоді як *TSLP* виявлений як протекторний агент стосовно ризику розвитку Т-хелпер-2-асоційованої БА [16]. У дослідженні Y. Gautam та співавт. (2020) показана роль локусів 17q12–21 та 5q22, які кодують білки *ORMDL3* – SNV rs4065275 і rs12936231, та SNV *TSLP* rs3806932 і rs10073816. У цьому дослідженні проаналізовані дані багатьох пангеномних досліджень або баз/каталогів даних на 29371 хворому кавказького або африканського походження, у яких знайдені 274 варіанти асоційованих з БА. У цьому ж дослідженні доведено асоціацію між варіантами *ORMDL3* і *TSLP* та розвитком клінічних фенотипів БА, АР та інших захворювань респіраторного тракту [10]. Асоціація між SNV/поліморфізмами гена *ORMDL3* rs8076131 і rs4065275 та розвитком дитячої БА підтверджена у двох дослідженнях – International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase II, Multicenter Asthma Genetics in Childhood Study/International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase II – вони мають нерівномірний зв'язок (асоціацію) з іншими SNV 17q21, які досліджувалися раніше [17]. Асоціація хромосомного регіону 17q12–21 з алергічною БА підтверджена і в інших дослідженнях. Так, на дорослих пацієнтах китайського походження продемонстровано, що SNV rs8076131 *ORMDL3* пригнічує експресію цього гена в білок, а також продукцію протеїнової фосфатази, зв'язуючого протеїну прозорої зони та гасдерміну (*GSDMB*), і асоційований із підвищеними рівнями загального імуноглобуліну Е та еозинофілією [2]. Водночас нещодавній аналіз датської і британської дорослих астма-когорт наводить суперечливі дані, що Т-алель SNV rs7216389 *ORMDL3* не пов'язаний ані з ризиком розвитку БА в дорослому віці, ані з підвищеним ризиком розвитку БА внаслідок тютюнокуріння [13]. Це дало змогу авторам мета-аналізу зробити висновок, що локус 17q12–21 пов'язаний із ризиком розвитку БА у дитячому віці. У статті з дослідження асоціації SNV *ORMDL3* та гена *GSDMB* виявлено, що SNV rs7216389 *ORMDL3* достовірно асоційований із рівнем експресії мРНК *ORMDL3*, який впливає на схильність до розвитку БА [1].

**Мета** дослідження — визначити роль SNV rs7927894 *FLG*, rs11466749 *TSLP* та rs7216389 *ORMDL3* у ризику розвитку фенотипів АМ, що базуються на БА — МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК та АД+АР/АРК+БА, у дітей.

### Матеріали та методи дослідження

У дослідженні взяли участь 121 дитина основної та 105 — контрольної групи віком від 3 до 18 років. Когорти дітей із фенотипами АМ, які становили основну групу: МОФ БА — 23 пацієнти; ПОФ БА+АР/АРК — 72 пацієнти; ПОФ АД+АР/АРК+БА — 26 пацієнтів. Контрольну групу становили 105 пацієнтів, хворих на патологію травної системи та без клінічних або параклінічних ознак нозологій АМ; у цих дітей зафіксовані такі діагнози: функціональна диспепсія, хронічний гастрит, хронічний дуоденіт, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки, функціональні розлади біліарної системи і/або сфінктера Одді. Діагнози БА як МОФ або в сполученні з АР/АРК та АД підтверджені за допомогою аналізів крові, загального та специфічного імуноглобулінів Е (IgE), спірометрії та тесту на видихуваний монооксид азоту (FeNO).

Перед набором до груп дослідження батьки або інші законні представники дітей підписали добровільні інформовані згоди на медичне втручання та обстеження згідно з Універсальною декларацією з біоетики та прав людини ЮНЕСКО (2005, м. Париж, Франція) та Гельсінською декларацією з прав людини Всесвітньої медичної асоціації в останній редакції, прийнятій на 64-й генеральній асамблеї (2013, м. Форталеза, Бразилія). Усім пацієнтам зроблений буквальний зіскрібок на визначення SNV rs7927894 *FLG*, rs11466749 *TSLP* та rs7216389 *ORMDL3*; отриманий матеріал заморожений до температури -32°C і транспортований до лабораторії відділу загальної і молекулярної патофізіології Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України. У цій лабораторії виділений супернатант ДНК пацієнтів груп дослідження, на якому проведений дискримінаційний алейний аналіз методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі з рестриктивною довжиною фрагмента поліморфізму (qPCR). Для проведення qPCR застосований аналізатор ампліфікації та сертифіковані набори праймерів від «Applied biosystems by Thermo Fischer Scientific» для досліджуваних SNV rs7927894 *FLG*, rs11466749 *TSLP* та rs7216389 *ORMDL3*;

C3243267\_10, C31152869\_10 та C29062108\_10, відповідно.

Для статистичної обробки та наведення отриманих результатів застосовані такі інструменти: вікова та гендерна структура груп і когорт дослідження, зустрічальність генотипних варіантів SNV rs7927894 *FLG*, rs11466749 *TSLP* та rs7216389 *ORMDL3*, представлена у вигляді відносних величин (%); асоціація між досліджуваними генотипами SNV rs7927894 *FLG*, rs11466749 *TSLP* та rs7216389 *ORMDL3* та фенотипами АМ у дітей визначена за допомогою коефіцієнта контингенції Бравайса–Пірсона ( $\tau$ ); для валідації отриманих різниць між групами і когортами дослідження — критерій хі-квадрат Пірсона ( $\chi^2$ ) для груп більше 5 пацієнтів і точний критерій Фішера (ТКФ) для груп менше 5 пацієнтів. Для обчислення ризику розвитку фенотипів МОФ БА та ПОФ БА+АР/АРК та АД+АР/АРК+БА — регресійний логістичний аналіз з обчисленням відношення шансів (ВШ) та 95% довірчого інтервалу (95% ДІ). Для визначення показників специфічності (Sp) і чутливості (Se) носійства досліджуваних генотипів у відсотках і для фенотипів АМ у дітей використаний ROC-аналіз (Receiver operator characteristics) з визначенням площі під кривою AUC (Area under the curve) з 95% ДІ.

Поріг статистичної достовірності за перевірки всіх гіпотез встановлений на рівні  $p < 0,05$ , тенденції до достовірних змін — на рівні  $p = 0,05 - 0,1$ .

Вищезазначені обчислення проведені з використанням програмного забезпечення «Statistica v.6.1» (№ AGAR909E415822FA, Statsoft Inc., США) та «MedCalc Software trial version 22.003» (MedCalc Software Ltd, Ostende, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2023).

### Результати дослідження та їх обговорення

Гендерний розподіл у когортах дослідження показав переважання хлопчиків, найбільш виражене за фенотипів АМ, ніж у контрольній групі (табл. 1). Незважаючи на відсутність достовірних відмінностей за цим параметром між повним ПОФ АД+АР/АРК+БА та контрольною групою, це засвідчило більшу схильність осіб чоловічої статі до розвитку алергічних хвороб.

У таблиці 2 наведено дані вікового розподілу дітей когорт основної та контрольній групах.

За даними таблиці 2, єдиним фенотипом, за якого спостерігалися достовірні відмінності

Таблиця 1

**Структура гендерного розподілу в когортах основної та контрольній групах**

Фенотип		Стать		Усього
		жіноча	чоловіча	
БА	N	5	18	23
	%	21,7**	78,3**	100
БА+АР/АРК	N	17	55	72
	%	23,6*	76,4*	100
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: \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p = 0,099$ , \*\*\* —  $p > 0,05$  щодо контрольної групи за критерієм  $\chi^2$ .

Таблиця 2

**Структура вікового розподілу в когортах основної та контрольній групах**

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				
АД+АР/АРК+БА	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  $\chi^2$ .

Таблиця 3

**Структура генотипів SNV rs\_7927894 FLG, rs\_11466749 TSLP та rs\_7216389 ORMDL3 в когортах основної та контрольній групах**

Фенотип		rs_7927894 FLG			rs_11466749 TSLP			rs_7216389 ORMDL3		
		C/C	C/T	T/T	A/A	A/G	G/G	C/C	C/T	T/T
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	<b>&lt;0,05</b>	>0,05	<b>&lt;0,05</b>	<b>0,066</b>	>0,05	<b>&lt;0,05</b>	>0,05	<b>&lt;0,001</b>
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	<b>0,086</b>	<b>&lt;0,01</b>	>0,05	<b>&lt;0,05</b>	<b>&lt;0,01*</b>	>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

Примітки: p — статистична значущість відмінностей порівняно з контрольною групою за критерієм  $\chi^2$ ; \* — за критерієм ТКФ.

за віком із контрольною групою та іншими когортами основної групи, був МОФ БА; за іншими ПОФ основної групи достовірних відмінностей із МОФ БА та контрольною групою не виявлено.

Оскільки розвиток фенотипів АМ у дітей визначається як окремими генотипним варіантами SNV, так і їх сполученнями, визначено структури зустрічальності відповідних гено-

типних варіантів у дітей когорт основної групи відносно дітей контрольної групи (табл. 3, 4).

Дані, наведені в таблиці 3, показали достовірні відмінності (від  $p < 0,05$  до  $p < 0,001$ ) для носійства таких генотипів для фенотипів АМ відносно контрольної групи: Т/Т rs\_7216389 ORMDL3 для МОФ БА; С/Т rs\_7927894 FLG, А/А rs\_11466749 TSLP, С/С та Т/Т rs\_7216389 ORMDL3 для ПОФ

Таблиця 4

**Вектори ризику розвитку різних фенотипів atopічного маршу в дітей за носійства різних генотипних варіантів rs\_7927894 FLG, rs\_11466749 TSLP та rs\_7216389 ORMDL3 відносно контрольної групи**

Генотип	Кореляційний аналіз	Логістичний регресійний аналіз		ROC-аналіз		
	r (p)	ризик*	ВШ (95% ДІ)	AUC (95% ДІ)	p <sub>1</sub>	Se/Sp (%)
<i>МОФ БА</i>						
T/T rs_7216389 ORMDL3	0,192 (p<0,05)	↑	2,97 (1,08–8,14)	0,598 (0,492–0,703)	0,069	34,8/84,8
<i>ПОФ БА+АР/АРК</i>						
C/T rs_7927894 FLG	0,150 (p<0,05)	↑	1,87 (1,01–3,46)	0,574 (0,501–0,648)	0,048	47,2/67,6
C/C rs_7216389 ORMDL3	0,163 (p<0,05)	↓	0,42 (0,19–0,93)	0,569 (0,510–0,628)	0,022	86,1/27,6
T/T rs_7216389 ORMDL3	0,255 (p<0,001)	↑	3,34 (1,63–6,82)	0,611 (0,545–0,677)	0,001	37,5/84,8
A/A rs_11466749 TSLP	0,147 (p<0,05)	↑	1,84 (1,0–3,42)	0,574 (0,501–0,647)	0,048	65,3/49,5
A/G rs_11466749 TSLP	0,138 (p=0,066)	↓	0,56 (0,30–1,04)	0,569 (0,497–0,641)	0,062	68,1/45,7
<i>ПОФ АД+АР/АРК+БА</i>						
C/C rs_7927894 FLG	0,150 (p=0,086)	↓	0,45 (0,18–1,13)	0,594 (0,491–0,696)	0,073	69,2/49,5
C/T rs_7927894 FLG	0,239 (p<0,01)	↑	3,34 (1,37–8,13)	0,646 (0,540–0,751)	0,007	61,5/67,6
A/A rs_11466749 TSLP	0,212 (p<0,05)	↑	3,27 (1,22–8,80)	0,632 (0,537–0,728)	0,007	77,0/49,5
A/G rs_11466749 TSLP	0,280 (p=0,001)	↓	0,15 (0,04–0,55)	0,671 (0,592–0,750)	<0,001	88,5/45,7

Примітки: p — статистична значущість коефіцієнта кореляції; \* — ризик знижений (↓) або підвищений (↑); AUC (95% ДІ) — площа під ROC-кривою з 95% ДІ; p<sub>1</sub> — статистична значущість AUC.

Таблиця 5

**Вектори ризику розвитку МОФ та ПОФ atopічного маршу в дітей за різних генотипних варіантів rs\_7927894 FLG, rs\_11466749 TSLP та rs\_7216389 ORMDL3**

Генотип	Кореляційний аналіз	Логістичний регресійний аналіз		ROC-аналіз		
	r (p)	ризик*	ВШ (95% ДІ)	AUC (95% ДІ)	p <sub>1</sub>	Se/Sp (%)
<i>ПОФ АД+АР/АРК+БА відносно МОФ БА</i>						
A/A rs_11466749 TSLP	0,259 (p=0,069)	↑	3,06 (0,90–10,41)	0,624 (0,491–0,757)	0,068	76,9/47,8
A/G rs_11466749 TSLP	0,320 (p<0,05)	↓	0,20 (0,05–0,88)	0,638 (0,518–0,758)	0,024	88,5/39,1
<i>ПОФ АД+АР/АРК+БА відносно ПОФ БА+АР/АРК</i>						
A/G rs_11466749 TSLP	0,204 (p<0,05)	↓	0,28 (0,08–1,0)	0,602 (0,519–0,685)	0,016	88,5/31,9
T/T rs_7216389 ORMDL3	0,172 (p=0,089)	↓	0,40 (0,13–1,17)	0,591 (0,496–0,687)	0,061	80,8/37,5

Примітки: p — статистична значущість коефіцієнта кореляції; \* — ризик знижений (↓) або підвищений (↑); AUC (95% ДІ) — площа під ROC-кривою з 95% ДІ; p<sub>1</sub> — статистична значущість AUC.

БА+АР/АРК; C/T rs\_7927894 FLG, A/A та rs\_11466749 TSLP для повного ПОФ АД+АР/АРК+БА. Визначено тенденції до достовірних відмінностей (0,05<p<0,1) за носійства таких генотипів: A/G rs\_11466749 TSLP для ПОФ БА+АР/АРК та повного ПОФ АД+АР/АРК+БА, C/C rs\_7927894 FLG для повного ПОФ АД+АР/АРК+БА.

У таблиці 4 показано вектори ризику розвитку різних фенотипів АМ за різних

варіантів досліджуваних генотипів SNV rs\_7927894 FLG, rs\_11466749 TSLP та rs\_7216389 ORMDL3 відносно пацієнтів контрольної групи за даними кореляційного (r), регресійного (ВШ (95% ДІ)) та ROC- (Se/Sp) аналізів.

У таблиці 5 наведено вектори ризику розвитку різних фенотипів АМ відносно одного за різних генотипних варіантів SNV rs\_7927894 FLG, rs\_11466749 TSLP та rs\_7216389 ORMDL3.

Наведені в таблиці 5 дані засвідчили генотип-асоціації ризику (шансів) розвитку фенотипів АМ на основні БА відносно один одного. Так, генотип А/Г rs\_11466749 *TSLP* достовірно знижував ризик розвитку повного ПОФ АД+АР/АРК+БА відносно як МОФ БА до 0,20 рази (AUC=0,638,  $p<0,05$ ), так і ПОФ БА+АР/АРК до 0,28 рази (AUC=0,602,  $p<0,05$ ). Тенденцію до достовірності впливу на ризик розвитку повного фенотипу АМ мали такі генотипи: Т/Т rs\_7216389 *ORMDL3* – зниження до 0,40 рази (AUC=0,591,  $p=0,089$ ), А/А rs\_11466749 *TSLP* – збільшення до 3,06 рази (AUC=0,259,  $p=0,069$ ).

Отримані результати вказали на достовірно значущі ролі, які відіграють генотипні варіанти SNV rs\_7927894 *FLG*, rs\_11466749 *TSLP* та rs\_7216389 *ORMDL3* у розвитку МОФ та ПОФ АМ у дітей. Незважаючи на визначення SNV rs\_7216389 *ORMDL3* як основного маркера схильності до розвитку БА у локусі 17q-12.21 ще в одному з перших пангеномних досліджень, проведеному М.Ф. Moffat та співавт. [15], донині не визначено ризиків розвитку фенотипів самої БА залежно від різних алелів такого поліморфізму. У наведеному власному дослідженні достовірно встановлено, що за гомозиготного генотипу Т/Т rs\_7216389 *ORMDL3* ризик розвитку ПОФ БА+АР/АРК підвищений, а за гомозиготного генотипу С/С rs\_7216389 *ORMDL3* – знижений. У роботі Е. Virben та співавт. [3] щодо дослідження ефекту SNV *TSLP* на БА та АР у дітей, у якому брали участь 25 дітей із фенотипами БА або АР, виявлено асоціацію гомозиготного генотипу А/А rs\_11466749 *TSLP* з БА у дітей, а гомозиготного Г/Г – з посиленням ризику виникнення ПОФ БА+АР. У власному дослідженні отримано результати з дисбалансом зв'язків, який проявлявся в наступному: у носіїв генотипу А/А rs\_11466749 *TSLP* визначено достовірну асоціацію та підвищений ризик розвитку ПОФ БА+АР/АРК та АД+АР/АРК+БА, відповідно,  $r=0,147$  та  $VШ=1,84$  (1,03–3,42, Se/Sp=65,3%/49,5%;  $p<0,05$ ) і  $r=0,212$  та  $VШ=3,27$  (1,22–8,80, Se/Sp=77,0%/49,5%;  $p<0,05$ ). У нашому дослідженні також показано значущу асоціацію  $r=0,259$  та  $VШ=3,06$  (0,90–10,4, Se/Sp=76,9%/47,8%;  $p=0,069$ ) у підвищеному ризику виникнення повного ПОФ АД+АР/АРК+БА відносно МОФ БА за даного SNV. У великому дослідженні М. Nagada та співавт. [11] на японській популяції встанов-

лено достовірну асоціацію та ризик розвитку дитячої БА з SNV rs3806933 ( $VШ=1,25$  (1,07–1,47),  $p=0,0063$ ), а також доведено значущу асоціацію між генотипним варіантом С/Т SNV rs2289276 та дитячою БА –  $VШ=1,33$  (1,13–1,57,  $p=0,00066$ ). Проте в даному дослідженні не досліджено ролі SNV rs\_11466749 *TSLP* для когорт пацієнтів із дитячою БА – це вказує на необхідність подальших досліджень і на українській, і на інших дитячих популяціях всіх поліморфізмів, асоційованих із ризиком розвитку фенотипів БА.

Стосовно гена *FLG* загальна тенденція полягає в помірному підвищенні ризику розвитку ПОФ АМ у носіїв його поліморфізмів [18]. У дослідженнях більш раннього періоду встановлено вплив SNV *FLG* R501X та Del4 на ранній розвиток АД та БА зі специфічною алергічною сенсibiliзацією до 4 років – розвиток ПОФ АД+БА з МОФ БА [4]. Підсумовуючи роль *FLG* у розвитку АМ, один із найповніших оглядів ролі філагрину в розвитку АД і інших хвороб АМ за авторством І. Šerelak та співавт. вказав на суперечливість даних щодо його впливу на травну систему та дихальні шляхи [6]. У власному дослідженні показано значущу роль rs\_7927894 *FLG* у розвитку різних фенотипів АМ: С/Т rs\_7927894 *FLG* достовірно асоційований і підвищує ризик розвитку ПОФ БА+АР/АРК:  $r=0,150$ ,  $VШ=1,87$  (1,01–3,46), Se/Sp=47,2%/67,6%;  $p<0,05$ ); а С/С rs\_7927894 *FLG* з тенденцією до достовірності асоційований та знижує ризик розвитку повного ПОФ АД+АР/АРК+БА:  $r=0,239$ ,  $VШ=0,45$  (0,18–1,13), Se/Sp=69,2%/49,5%;  $p=0,086$ ).

### Висновки

Генотипними варіантами, асоційованими з підвищеним ризиком (шансами) розвитку МОФ та ПОФ АМ із БА як стрижневою нозологією, є SNV С/Т rs\_7927894 *FLG*, А/А rs\_11466749 *TSLP* та Т/Т rs\_7216389 *ORMDL3*.

SNV Т/Т rs\_7216389 *ORMDL3* достовірно асоційований із підвищеним ризиком розвитку МОФ БА у 2,97 рази ( $p<0,05$ ).

Ризик розвитку ПОФ БА+АР/АРК достовірно асоційований та підвищується за носійства SNV С/Т rs\_7927894 *FLG*, А/А rs\_11466749 *TSLP* та Т/Т rs\_7216389 *ORMDL3* у 1,87 ( $p<0,05$ ), 1,84 ( $p<0,05$ ) і 3,34 ( $p<0,001$ ) рази, відповідно. Водночас ризик розвитку ПОФ БА+АР/АРК асоційований та знижується за носійства SNV С/С rs\_7927894

*FLG* та A/G rs\_11466749 *TSLP* до 0,42 ( $p < 0,05$ ) і 0,56 ( $p < 0,066$ ) раза, відповідно.

Ризик розвитку повного ПОФ АД+АР/АРК+БА достовірно асоційований та підвищується за носійства SNV C/T rs\_7927894 *FLG* та A/A rs\_11466749 *TSLP* у 3,34 ( $p < 0,01$ ) і 3,27 ( $p < 0,05$ ) раза, відповідно. Асоціації АД+АР/АРК+БА, що знижують ризик розвитку цього фенотипу, зафіксовані за носійства SNV C/C rs\_7927894 *FLG* та A/G rs\_11466749 *TSLP*: до 0,45 ( $p = 0,086$ ) і 0,15 ( $p < 0,001$ ) раза, відповідно.

SNV A/A rs\_11466749 *TSLP* значуще підвищує до 3,06 раза ( $p = 0,069$ ), а SNV A/G rs\_11466749 *TSLP* знижує до 0,20 ( $p < 0,05$ ) раза ризик розвитку повного фенотипу АМ — АД+АР/АРК+БА — відносно МОФ БА.

SNV A/G rs\_11466749 *TSLP* та SNV T/T rs\_7216389 *ORMDL3* асоційовані зі зниженим ризиком розвитку повного фенотипу АМ АД+АР/АРК+БА відносно ПОФ БА+АР/АРК до 0,28 ( $p < 0,05$ ) і 0,40 ( $p < 0,089$ ) раза, відповідно.

*Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.*

## REFERENCES/ЛІТЕРАТУРА

- Acevedo N, Reinius LE, Greco D, Gref A, Orsmark-Pietras C, Persson H et al. (2015, Feb 1). Risk of childhood asthma is associated with CpG-site polymorphisms, regional DNA methylation and mRNA levels at the GSDMB/ORMDL3 locus. *Hum Mol Genet.* 24 (3): 875–890. doi: 10.1093/hmg/ddu479.
- Andiappan AK, Sio YY, Lee B, Suri BK, Matta SA, Lum J et al. (2016, Mar). Functional variants of 17q12–21 are associated with allergic asthma but not allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 137 (3): 758–766.e3. doi: 10.1016/j.jaci.2015.08.038.
- Birben E, Sahiner UM, Karaaslan C, Yavuz TS, Cosgun E, Kalayci O, Sackesen C. (2014). The genetic variants of thymic stromal lymphopoietin protein in children with asthma and allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 163 (3): 185–192. doi: 10.1159/000358488.
- Bønnelykke K, Pipper CB, Tavendale R, Palmer CN, Bisgaard H. (2010, Sep). Filaggrin gene variants and atopic diseases in early childhood assessed longitudinally from birth. *Pediatr Allergy Immunol.* 21 (6): 954–961. doi: 10.1111/j.1399-3038.2010.01073.x.
- Bønnelykke K, Pipper CB, Tavendale R, Palmer CN, Bisgaard H. (2010, Sep). Filaggrin gene variants and atopic diseases in early childhood assessed longitudinally from birth. *Pediatr Allergy Immunol.* 21 (6): 954–961. doi: 10.1111/j.1399-3038.2010.01073.x.
- Čepelak I, Dodig S, Pavić I. (2019, Jun 15). Filaggrin and atopic march. *Biochem Med (Zagreb).* 29 (2): 020501. doi: 10.11613/BM.2019.020501.
- Dyatiatkovskiy VO, Naumenko NV, Alifirenko OO ta in. (2022). Odonukleotydni varianty henivflahrinuta hliukokrotykoidnykh retseptoriv u ditei, khvorykh na rizni fenotypy atopichnykh zakhvoriuvan. *Medychni perspektivy.* 27; 1: 132–139. [Дитятковський ВО, Науменко НВ, Аліфіренко ОО та ін. (2022). Одонуклеотидні варіанти генів філагрину та глюкостероїдних рецепторів у дітей, хворих на різні фенотипи atopічних захворювань. Медичні перспективи. 27; 1: 132–139]. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254378>.
- Dyatiatkovskiy VO. (2021). Role of single nucleotide variants of thymic stromal lymphopoietin in the mono- and polyorganic lesions within atopic disorders in children. *Modern Pediatrics. Ukraine.* 8 (120): 23–29. [Дитятковський ВО. (2021). Роль одонуклеотидних варіантів гена тимічного стромального лімфопоетину у прогнозуванні моно- та полі-органного ураження в дітей, хворих на atopічні захворювання. Сучасна педіатрія. Україна. 8 (120): 23–29]. doi: 10.15574/SP.2021.120.23.
- Dyatiatkovskiy VO. (2023). Asotsiatsiia odonukleotydnykh variantiv hena orsomukoid-1-podibnoho bilka 3 z fenotypamy atopichnoho marshu v ditei. *Zdorov'ia dytyny.* 3 (18): 52–58. [Дитятковський ВО. (2023). Асоціація одонуклеотидних варіантів гена орсомуквід-1-подібного білка 3 з фенотипами atopічного маршу в дітей. Здоров'я дитини. 3 (18): 52–58]. doi: 10.22141/2224-0551.18.3.2023.1586.
- Gautam Y, Afanador Y, Ghandikota S, Mersha TB. (2020, Aug). Comprehensive functional annotation of susceptibility variants associated with asthma. *Hum Genet.* 139 (8): 1037–1053. doi: 10.1007/s00439-020-02151-5.
- Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T et al. (2011, Jun). Thymic stromal lymphopoietin gene promoter polymorphisms are associated with susceptibility to bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 44 (6): 787–793. doi: 10.1165/rcmb.2009-0418OC.
- Hill DA, Spergel JM. (2018). The atopic march. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 120(2): 131–137. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2017.10.037>.
- Kreiner-Møller E, Strachan DP, Linneberg A, Husemoen LL, Bisgaard H, Bønnelykke K. (2015, Jan). 17q21 gene variation is not associated with asthma in adulthood. *Allergy.* 70 (1): 107–114. doi: 10.1111/all.12537.
- Lizzo JM, Cortes S. (2023, Jan). Pediatric Asthma. [Updated 2023 May 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551631>.
- Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, Dixon AL, Strachan D, Heath S et al. (2007). Genetic variants regulating *ORMDL3* expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature.* 448: 470–473.
- Ntontsi P, Photiades A, Zervas E, Xanthou G, Samitas K. (2021, Feb 27). Genetics and Epigenetics in Asthma. *Int J Mol Sci.* 22 (5): 2412. doi: 10.3390/ijms22052412.
- Schedel M, Michel S, Gaertner VD, Toncheva AA, Depner M, Binia A et al. (2015, Oct). Polymorphisms related to *ORMDL3* are associated with asthma susceptibility, alterations in transcriptional regulation of *ORMDL3*, and changes in TH2 cytokine levels. *J Allergy Clin Immunol.* 136 (4): 893–903.e14. doi: 10.1016/j.jaci.2015.03.014.
- Thomsen AF (ed.). (2014). Asthma. In: Thyssen JP, Maibach HI eds. *Filaggrin. Basic Science, Epidemiology, Clinical Aspects and Management.* Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer: 169–181.
- Zhu Z, Lee PH, Chaffin MD, Chung W, Loh PR, Lu Q et al. (2018). A genome-wide cross-trait analysis from UK Biobank highlights the shared genetic architecture of asthma and allergic diseases. *Nat Genet.* 50 (6): 857–864. doi: 10.1038/s41588-018-0121-0.

### Відомості про авторів:

Дитятковський Володимир Олександрович — к.мед.н., доц. каф. педіатрії № 1 та медичної генетики Дніпровського ДМУ. Адреса: м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. <https://orcid.org/0000-0002-8508-5562>.  
Стаття надійшла до редакції 22.07.2023 р., прийнята до друку 10.10.2023 р.