

- al.] // Immunol. Allergy. Clin. North. Am. – 2011. – 31(1). – p. 55-68.
9. Delevaux J., Chamoux A., Stress and autoimmunity / J. Delevaux, A. Chamoux // Rev. Med. Intern. – 2013. – 34(8). – p. 487-492.
10. Schnackenberg C. Warum stress lebensbedrohliche krankheiten verursacht. / C. Schnackenberg // Yogal. Sangerin and Schaus. – 2017. – №9. – p. 322-341.
11. Marketon J.I., Glaser R., Stress hormones and immune function. / J.I. Marketon, R. Glaser // Cell Immunol. – 2008. – Vol. 252 (1-2). – p. 16-26.
12. McGregor B.A., Murphu K.M., Albano D.L. Ceballos R.M. Stress, cortisol and B-lymphocytes: a novel approach to understanding Academic Stress and Immune Function / B.A. McGregor [et al.] // Stress. – 2016. – Vol. 19(2) – p. 185-191.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *CYP3A5* (*RS776746*) В ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Застрожина А.К.¹, Захарова И.Н.², Сычев Д.А.²

¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Детская государственная поликлиника №42 департамента здравоохранения города Москвы», РФ

² Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного образования» Минздрава России

E-mail: etc_@bk.ru

THE ROLE OF *CYP3A5* (*RS776746*) GENE POLYMOGENE POLYMORPHISM IN THE EFFICACY OF BRONCHIAL ASTHMA THERAPY IN CHILDREN

Zastrozhina A.K.¹, Zakharova I.N.² MD, PhD, Professor, Honored RF doctor, Sychev D.A.² MD, PhD, Professor, Corr. Memb. of RAS

¹ Children's City Polyclinic No.42 of the Moscow Healthcare Department

² Russian Medical Academy of Postgraduate Education of Russian Ministry of Health

Актуальность. Современные национальные и международные клинические рекомендации регламентируют выбор противовоспалительной терапии у детей с бронхиальной астмой (БА). Препаратами первой линии выбора являются ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС). Метаболизм ИГКС происходит при участии изоферментов цитохрома P 450 (CYP) семейства 3A. Гены, кодирующие данные изоферменты, обладают полиморфизмами. Ранее проведенные фармакогенетические исследования демонстрируют влияние полиморфизмов генов, ответственных за работу изоферментов CYP3A5, на эффективность терапии бронхиальной астмы.

Введение. На сегодняшний день бронхиальная астма (БА) является актуальной проблемой педиатрии, аллергологии и пульмонологии. В 2017 году в России зарегистрировано 1028,6 случаев БА на 100000 детского населения до 14 лет [1]. По данным крупнейшего эпидемиологического исследования по изучению аллергии и астмы у детей International Study of Allergy and Asthma in Children (ISAAC), среди детей 6-7 лет

распространенность БА составила 11,7%, среди детей 13-14 лет – 14,1% [2].

Существующие международные и национальные программные документы регламентируют выбор терапии у детей с БА [3-5]. Согласно рекомендациям, основным направлением лечения БА является купирование воспаления в дыхательных путях. Выбор противовоспалительной терапии (син. контролирующей, базисной, поддерживающей) определяется в соответствии с уровнем контроля симптомов БА [3-5]. Выделяют контролируемое, частично контролируемое и неконтролируемое течение БА. Отсутствие полного контроля заболевания требует рассмотрения вопроса о ступенчатом повышении объема противовоспалительной терапии. При длительном сохранении контроля БА возможно ее ступенчатое снижение. Таким образом, адекватный выбор базисной терапии позволяет контролировать БА, повышая качество жизни пациентов.

Наиболее эффективными лекарственными средствами противовоспалительной терапии БА являются ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС). Тем

не менее, согласно литературным данным, примерно в 30% случаев терапия ИГКС не способствует полному контролю симптомов заболевания [6].

Известно, метаболизм ИГКС происходит при участии изоферментов цитохрома P 450 (CYP) семейства 3A [6-10]. В клетках дыхательных путей экспрессия CYP3A в основном представлена CYP3A5, в клетках печени – CYP3A4. За активность изоферментов CYP3A5 и CYP3A4 отвечают гены *CYP3A5* и *CYP3A4* соответственно. Данные гены обладают полиморфизмами. Наиболее изученными являются полиморфизмы *rs776746* (син. *6986A>G*) гена *CYP3A5* и *rs35599367* гена *CYP3A4*.

Ранее проведенные фармакогенетические исследования показывают влияние полиморфизмов генов, ответственных за экспрессию изоферментов цитохрома P450, на эффективность терапии респираторных заболеваний [7,11-14]. Имеющиеся данные демонстрируют необходимость таких исследований у детей с бронхиальной астмой.

Цель исследования. Поиск возможностей оптимизации терапии бронхиальной астмы у детей на основании оценки влияния полиморфизмов *rs776746* гена *CYP3A5* и *rs35599367* гена *CYP3A4* на эффективность противовоспалительной терапии бронхиальной астмы у детей.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе трех городских поликлиник города Москвы. В работе приняли участие 108 детей в возрасте 6-17 лет с установленным в соответствии с критериями GINA диагнозом БА. Все респонденты находились под динамическим наблюдением врача аллерголога. В ходе работы проводилась регулярная оценка контроля симптомов БА с использованием критериев GINA, а также адаптированных опросников по контролю БА. Среди них: опросник ACQ, рекомендованный к использованию у детей с БА старше 6 лет [15], тест АСТ, используемый у детей старше 12 лет [16], тест С-АСТ по контролю над астмой для детей от 4 до 11 лет [17]. Кроме того, для всех пациентов проводились образовательные мероприятия с целью повышения приверженности медицинским рекомендациям, обучению технике ингаляции.

В процессе наблюдения за детьми в зависимости от уровня контроля симптомов проводилась коррекция объема противовоспалительной терапии, с последующим ее анализом.

У всех пациентов выполнено генотипирование с определением полиморфизмов *rs776746* гена *CYP3A5* и *rs35599367* гена *CYP3A4*. С использованием цитощеток («Changzhou Chuangjia Medical Appliance Co., Ltd», Китай) собран буккальный эпителий. Далее проводилось определение генетических полиморфизмов в несколько

этапов: 1) выделение геномной ДНК из буккального эпителия; 2) проведение аллель-специфичной ПЦР на ДНК-амплификаторах «Dtlite» компании «ДНК-Технология» (Россия) и CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager компании BioRad (США) с использованием наборов «SNP-Скрин» ЗАО «Синтол» (Россия); 3) анализ и интерпретация результатов.

Статистический анализ результатов работы проводился с использованием методов параметрической и непараметрической статистики при помощи пакета прикладных программ STATISTICA v10.0 («StatSoftInc.», США). При выборе способа анализировалась нормальность распределения выборок (W-теста Шапиро-Уилка). Сравнение двух выборок осуществлялось с учетом однородности дисперсий (F-теста Фишера). Статистически значимым результат считался при p-value менее 0,05 (статистическая мощность более 80%).

Результаты. В исследовании приняли участие 108 детей в возрасте 6-17 лет с установленным в соответствии с критериями международных и национальных программных документов диагнозом БА.

Мальчиков было 68,52% (74), девочек – 31,48% (34). 45,37% (49) детей были в возрасте 6-11 лет, 54,63% (59) – в возрасте 12-17 лет.

У 90,74% (98) детей имела место атопическая БА. У 9,26% (10) пациентов не было выявлено специфически значимых аллергенов, а эпизоды бронхообструкции у них возникали в ответ на неспецифические факторы.

У 100 детей на момент включения уже имели выставленный диагноз БА и получали противовоспалительную терапию. У 8 детей на момент включения диагноз БА выставлен впервые.

Мы провели оценку контроля симптомов БА у детей с ранее выставленным диагнозом БА (n=100). У 39% (39) детей была диагностирована контролируемая БА. У 61% (61) респондентов полного контроля заболевания не наблюдалось. Из них частично контролируемое течение у 31% (31) детей, неконтролируемое – 30% (30).

Все дети находились под динамическим наблюдением аллерголога. Для всех пациентов были организованы образовательные мероприятия с целью повышения приверженности пациентов медицинским рекомендациям, обучению технике использования ингаляторов.

Мы регулярно проводили оценку контролируемости БА у всех детей. В зависимости от уровня контроля проводилась коррекция объема противовоспалительной терапии. Мы потребовавшийся для достижения контроля БА объем терапии.

По нашим данным, у 64,81% (70) детей контроль симптомов достигался с использованием низких доз ИГКС или применением короткодействующих бета2-агонистов (КДБА) по потребности. Данные пациенты были отнесены к группе детей, объем терапии которых

соответствовал первой и второй ступеням в соответствии с критериями GINA. У 35,19% (38) детей контроль БА был достигнут применением объема базисной терапии третьей ступени GINA: 12,96% (14) этих детей получали средние дозы ИГКС, у 5,56% (6) были рекомендованы низкие дозы фиксированных комбинаций ИГКС с длительно действующими бета2-агонистами (ДДБА). 13,89% (15) респондентов получали объем терапии четвертой ступени GINA с применением средних и высоких доз фиксированных комбинаций ИГКС/ДДБА. Объем терапии 2,78% (3) детей соответствовал пятой ступени GINA. У этих детей была применена таргетная терапия с использованием моноклональных антиIgE антител.

Надо отметить, что у 7 детей контроль заболевания не достигался даже высокими дозами ИГКС/ДДБА (в том числе 3 детей, получавших таргетную терапию).

В зависимости от объема терапии мы распределили всех детей на группы с легкой, среднетяжелой и тяжелой БА. Легкая БА была диагностирована у детей, находящихся на первой и второй ступенях терапии в соответствии с критериями GINA. Среднетяжелое течение БА было установлено у респондентов, получающих терапию третьей ступени. Тяжелая БА диагностирована у детей четвертой и пятой ступеней. В результате, легкое течение БА установлено у 64,81% (70) детей, среднетяжелое течение – у 18,52% (20) детей, тяжелое – у 16,67% (18) детей.

Мы провели генотипирование у всех респондентов. Изучались полиморфные маркеры *rs776746* гена *CYP3A5* и *rs35599367* гена *CYP3A4*.

Мы изучили распределение генотипов по полиморфизму *rs776746* гена *CYP3A5* Распределение генотипов *CYP3A5* (*6986A>G*) соответствовало закону Харди-Вайнберга для европейской популяции ($\chi^2 = 0,25$, $p\text{-value} = 0,61$).

Из 108 человек 98 (90,74%) были гомозиготами по полиморфному маркеру *6986A>G* гена *CYP3A5* и имели генотип GG. 10 детей (9,26%) были гетерозиготами с генотипом AG.

Мы провели анализ течения БА 10 респондентов с генотипом AG.

4 из 10 этих детей с генотипом AG получали объем терапии четвертой и пятой ступеней в соответствии с критериями GINA и имели тяжелое течение БА. У трех из них заболевание не контролировалось высокими дозами ИГКС/ДДБА. У одного ребенка начата таргетная терапия.

3 из 10 детей с генотипов AG для контроля симптомов БА получали низкие дозы фиксированных комбинаций ИГКС/ДДБА и имели среднетяжелое течение БА.

Остальное трое гетерозигот получали объем терапии первой и второй ступеней GINA и имели легкое течение БА.

Таким образом, в группе детей с легким течением БА частота встречаемости гетерозигот по полиморфному маркеру *6986A>G* гена *CYP3A5* составила 4,29% (3), в группе среднетяжелой БА – 3 из 20, в группе тяжелого течения – 4 из 18.

При статистической обработке данных, мы получили статистически значимую разницу в частоте встречаемости генотипа AG (полиморфизм *rs776746* гена *CYP3A5*) между группой детей с тяжелым течением БА, получающих объем противовоспалительной терапии четвертой и пятой ступеней в соответствии с критериями GINA, и группой детей с легкой степенью БА, получающих объем терапии первой и второй ступеней: в группе детей с тяжелым течением БА частота встречаемости генотипа AG была выше ($p=0,029$). Кроме того, было показано, что в группе детей, находящихся на третьей и выше ступенях терапии в соответствии с критериями GINA, статистически чаще встречался генотип AG (полиморфизм *rs776746* гена *CYP3A5*) по сравнению с группой детей, получавших объем терапии первой и второй ступеней ($p=0,031$).

Таким образом, было получено, что присутствие генотипа AG полиморфизма *6986A>G* гена *CYP3A5* ассоциировано с потребностью в большем объеме противоастматической поддерживающей терапии, то есть является фактором риска более тяжелого течения БА.

При проведении генотипирования по полиморфному маркеру *rs35599367* гена *CYP3A4* было получено, что все дети являлись гомозиготами по аллелю С и обладали генотипом CC. Таким образом, мы не получили данных по влиянию полиморфизма *rs35599367* гена *CYP3A4* на эффективность противовоспалительной терапии у детей с БА.

Выводы.

1) Частота встречаемости генотипа AG полиморфизма *6986A>G* гена *CYP3A5* у детей с БА составила 9,26%.

2) У 7 из 10 гетерозигот с генотипом AG полиморфизма *6986A>G* гена *CYP3A5* объем контролирующей терапии соответствовал третьей и выше ступеням по критериям GINA.

3) У 3 гетерозигот с генотипом AG полиморфизма *6986A>G* гена *CYP3A5* контроль БА не был достигнут высокими дозами ИГКС/ДДБА.

4) В группе детей, получавших объем терапии четвертой и пятой ступеней в соответствии с критериями GINA и имевших тяжелое течение БА, частота встречаемости генотипа AG была статистически выше ($p=0,029$).

5) В группе детей, находящихся на третьей и выше ступенях терапии в соответствии с критериями GINA, статистически чаще встречался генотип AG (полиморфизм *rs776746* гена *CYP3A5*) по сравнению с группой детей, получавших объем терапии первой и второй ступеней ($p=0,031$).

б) Все респонденты были гомозиготами по полиморфному маркеру *rs35599367* гена *CYP3A4* и обладали генотипом *CC*.

Таким образом, было показано, что генотип *AG* полиморфизма *rs776746* гена *CYP3A5* ассоциирован с потребностью в большем объеме противовоспалительной терапии для контроля БА и является фактором риска более тяжелого течения БА.

Обсуждение. Мы выявили статистически значимое присутствие гетерозигот *AG* по полиморфному маркеру *6986A>G* гена *CYP3A5* в группах детей со среднетяжелой и тяжелой БА, что показывает необходимость проведения дальнейших исследований изучения фармакогенетических механизмов эффективности лекарственных средств противовоспалительной терапии БА.

Известно, что большинство представителей европеоидной расы являются мутантными гомозиготами по данному полиморфизму и обладают генотипом *GG* [10]. Такой генотип отвечает за экспрессию неактивной формы изофермента *CYP3A5*. При этом наличие хотя бы одного аллеля *A* приводит к значительному повышению активности изофермента и ускорению метаболизма лекарственных средств, являющихся его субстратами [7].

Основной метаболизм ИГКС происходит при участии изоферментов цитохрома P 450 *CYP3A4* и *CYP3A5* [6]. В печени основная роль принадлежит *CYP3A4*. В клетках дыхательных путей – *CYP3A5*. Возможно, снижение работы *CYP3A5* у большинства носителей генотипа *GG* (ген *CYP3A5* (*A6986G*)) пролонгирует присутствие активной формы некоторых ИГКС, при этом увеличивая их противовоспалительный эффект.

При этом при наличии аллеля *A* (ген *CYP3A5* (*A6986G*)), отвечающего за экспрессию активной формы изофермента, может приводить к ускорению метаболизма и инактивации активной формы ИГКС, что способствует снижению их противовоспалительного эффекта и потребности в увеличении дозы и применении дополнительных лекарственных средств. Данный вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поликарпов А.В., Александрова Г.А., Голубева Н.А. Статистические материалы. Общая заболеваемость детского населения России (0 – 14 лет) в 2017 году. Часть VI. М.: 2018; 144. [Polikarpov A.V., Aleksandrova G.A., Golubeva N.A. Statistical materials. The overall incidence of the child population of Russia (0–14 years) in 2017. Part VI. Moscow: 2018; 144. (in Russ)] Электронный доступ: <https://www.rosminzdrav.ru>
2. Mallola J, Crane J, von Mutius E, Odhiambo J, Keil U, Stewart A, the ISAAC Phase Three Study Group. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase three: a global synthesis. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2013;41(2):73–85.
3. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2018 update).
4. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., перераб. и доп. М.: Оригинал-макет, 2017. [National program «Bronchial asthma in children. Treatment strategy and prevention. 5th revised and enlarged edition. М.: Original-maket, 2017 (In Russ)]
5. Федеральные клинические рекомендации Бронхиальная астма у детей. 2017год. [Federal clinical guidelines. Bronchial asthma in children. 2017 (In Russ)]
6. Murai T., Reilly C.A., Ward R.M., Yost G.S. The inhaled glucocorticoid fluticasone propionate efficiently inactivates cytochrome P450 3A5, a predominant lung P450 enzyme. *Chem Res Toxicol.* 2010; 23:1356–1364.
7. Пономаренко Т.М., Сычѳв Д.А., Чикало А.О., Бердникова Н.Г., Кукес В.Г. Система цитохрома P450 в лёгких: роль в патогенезе заболеваний и фармакокинетику лекарственных средств/ Журнал Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012; 1(4)
8. (Ponomarenko T.M., Sychov D.A., Chikalo A.O., Berdnikova N.G., Kukes V.G. Cytochrome P450 system in the lungs: role in the pathogenesis of diseases and pharmacokinetics of drugs. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2012; 1(4) (In Russ))
9. Застрожина А.К., Сычев Д.А. Фармакогенетические аспекты эффективности и безопасности ингаляционных глюкокортикостероидов в лечении бронхиальной астмы. *Клин фармакотер* 2018;27(4):64-68. DOI 10.32756/0869- 5490-2018-5-64-68.
10. (Zastrozhina A.K., Sy`chev D.A. Pharmacogenetic aspects of the efficacy and safety of inhaled glucocorticosteroids in the treatment of bronchial asthma. *Clin Pharm* 2018;27(4):64-68. (In Russ))
11. Price A.C., Sisson J.R., Pereira A., Dallow N., Daley-Yates P.T. Beclomethasone dipropionat: absolute bioavailability, pharmacokinetics and metabolism following intravenous, oral, intranasal and inhaled administration in men // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2001; 51: 400-409.
12. Quaranta S., Chevalier D., Allorfe D., Lo-Guidice J.M., Migot-Nabias F., Kenani A., et al., Ethnic differences in the distribution of *CYP3A5* gene polymorphisms. *Xenobiotica.* 2006;36:1191-200.
13. Thum T., Erpenbeck V.J., Moeller J., Hohlfeld J.M., Krug N., Borlak J. Expression of Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Different Lung Compartments of Smokers and Nonsmokers. *Environ Health Perspect.* 2006 Nov;114(11):1655-61.

14. Seo T., Pahwa P., McDuffie H.H., Yurube K., Egoshi M., Umemoto Y., et al. Association between cytochrome P450 3A5 polymorphism and the lung function in Saskatchewan grain workers. *Pharmacogenet Genomics*. 2008 Jun;18(6):487-93.
15. Stockmann C., Fassel B., Gaedigk R., Nkoy F., Uchida D.A., Monson S., et al. Fluticasone propionate pharmacogenetics: CYP3A4*22 polymorphism and pediatric asthma control. *J Pediatr* 2013;162:1222-7, 1227.e1-2.
16. Stockmann C., Reilly C.A., Fassel B., Gaedigk R., Nkoy F., Stone B., et al. Effect of CYP3A5*3 on asthma control among children treated with inhaled beclomethasone. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Aug;136(2):505-7.
17. Juniper EF, Gruffydd-Jones K, Ward S, Svensson K. Asthma Control Questionnaire in children: validation, measurement properties, interpretation. *Eur Respir J* 2010;36:1410-6.
18. Nathan RA, Sorkness CA, Kosinski M, et al. Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:59-65.
19. Liu AH, Zeiger R, Sorkness C, et al. Development and cross-sectional validation of the Childhood Asthma Control Test. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:817-25.

УРОВЕНЬ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ СОЧЕТАНИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА И *H. PYLORI*-АССОЦИИРОВАННЫХ ПАТОЛОГИЙ

Ираклионова Н.С., Белан Э.Б., Туркина С.В.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Волгоград, Россия

THE LEVEL OF SOME CYTOKINES IN THE COMBINATION OF ALLERGIC RHINITIS AND *H. PYLORI*-ASSOCIATED PATHOLOGIES

Iraklionova N.S., Belan E.B., Turkina S.V.

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Актуальность. Хронические воспалительные заболевания верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются самыми частыми среди поражений органов пищеварения. Данным видом патологии в России страдает около трети населения. В настоящее время одной из основных причин развития данной группы заболеваний считается инфекционная. При этом признано, что главная роль в этиологии гастритов принадлежит бактерии *Helicobacter pylori*. Вместе с тем высокая распространенность характерна также и для аллергопатологии. По данным официальной статистики в нашей стране аллергические заболевания выявлены у 17-30% населения: аллергический ринит – 12,7-24%, бронхиальная астма – 5,6-7,3% взрослого населения и 5,6-12% детей, атопический дерматит – 5-15% [1].

Во многих исследованиях показана взаимосвязь аллергических заболеваний с заболеваниями ЖКТ и гепатобилиарной системы [3, 4]. Также отмечено, что распространенность аллергической патологии выше у лиц с заболеваниями ЖКТ, чем у лиц, не имеющих их.

Изучение особенностей иммунологической реактивности при сочетании гастроуденальной патологии

и аллергических заболеваний с целью дальнейшей оптимизации ведения данных пациентов представляет значительный интерес.

Цель. Оценить особенности продукции сывороточных IL-4 и IL-10 у пациентов с сочетанием аллергического ринита и *H. pylori*-ассоциированных патологий.

Материалы и методы. Работа выполнена в дизайне одномоментного сравнительного аналитического исследования в параллельных группах.

В исследование были включены 225 человек в возрасте от 18 до 40 лет (средний возраст составил 28,9±6,32 года). В группу обследованных вошли лица обоего пола: 147 женщин (65,3%) и 78 мужчин (34,7%). Перед включением в исследование все больные были консультированы врачом-гастроэнтерологом и врачом-аллергологом-иммунологом.

Критерии включения: наличие подтвержденного диагноза «аллергический ринит» [2] в стадии ремиссии; наличие воспалительных заболеваний верхнего отдела ЖКТ (хронический гастрит, хронический гастроуденит) до начала терапии.

Критерии исключения: менее 30 дней после острых воспалительных заболеваний, не локализованных в