

© МАЛИНЧИК М. А., ГОРБАЧЕВА Н. Н., БЕЛЕНЮК В. Д., КОНОПЛЕВА О. С., СМОЛЬНИКОВА М. В.

УДК 577.322/591.15:616.248-053.2

DOI: 10.20333/25000136-2022-2-78-87

Уровень цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха и полиморфизм генов цитокинов при бронхиальной астме у детей

М. А. Малинчик¹, Н. Н. Горбачева¹, В. Д. Беленюк¹, О. С. Коноплева^{1,2}, М. В. Смольникова¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярск 660022, Российская Федерация

² Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить уровни цитокинов, характеризующих баланс Th1/Th2/Th17 лимфоцитов в конденсате выдыхаемого воздуха, а также исследовать роль полиморфных вариантов генов этих цитокинов у детей г. Красноярска при бронхиальной астме (БА) в зависимости от степени тяжести и уровня контроля заболевания.

Материал и методы. Исследуемая группа – 104 ребенка с БА и 65 детей без бронхолегочных и аллергических заболеваний в анамнезе. Диагностика, степень тяжести и уровень контроля заболевания были установлены в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA. Дети с БА были разделены на группы по степени тяжести и уровню контроля астмы. Материал исследования - конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ) и ДНК из периферической крови. Выделение ДНК проводилось сорбентным методом, генотипирование осуществлялось при помощи метода ПЦР в режиме реального времени. Сбор КВВ осуществляли с помощью прибора RTube Exhaler Breath Condensate Collector. Концентрацию цитокинов в нативных образцах КВВ определяли с помощью системы мультиплексного иммуноанализа MagPix. Обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica для Windows 10.0 и Microsoft Excel, 2007. Сравнение частот аллелей и генотипов проводили с помощью online-калькулятора, теста χ -квадрат. Отношение шансов (ОШ) с 95%-ным доверительным интервалом (ДИ) проводилось для связи генетических маркеров с фенотипами патологии.

Результаты. При сравнении частоты генотипов и аллелей полиморфизма IL13 rs1800925 в группах БА и контроля нами было показано статистически значимое отличие в отношении генотипа CC и аллеля T. Кроме того, было обнаружено, что частота встречаемости генотипа AA IL17A rs2275913 выше в группе с контролируемой БА, а также в группе с легкой степенью тяжести БА. Не было выявлено статистически значимых отличий по полиморфизмам IL4 rs2243250, IL5 rs2069812, IFN γ rs2069705 между группами больных и контроля. При определении концентрации цитокинов в КВВ были обнаружены лишь «следовые» количества исследуемых аналитов. Значения концентраций для цитокинов IL-13, IL-17A и IL-4 были чуть выше порога чувствительности используемого метода и набора. IFN- γ и IL-5 удалось обнаружить лишь у 2 пациентов.

Заключение. В ходе исследования не было обнаружено ассоциации полиморфных генов с уровнями концентрации цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха.

Ключевые слова: Бронхиальная астма, дети, цитокины, конденсат выдыхаемого воздуха, полиморфизм, ДНК, ген.

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

Для цитирования: Малинчик МА, Горбачева НН, Беленюк ВД, Коноплева ОС, Смольникова МВ. Уровень цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха и полиморфизм генов цитокинов при бронхиальной астме у детей. *Сибирское медицинское обозрение.* 2022;(2):78-87. DOI: 10.20333/25000136-2022-2-78-87

The cytokine level in exhaled breath condensate and cytokine genes polymorphism in children with bronchial asthma

M. A. Malinchik¹, N. N. Gorbacheva¹, V. D. Belenjuk¹, O. S. Konopleva^{1,2}, M. V. Smolnikova¹

¹ Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

² Prof. V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

The aim of the research. To assess the levels of cytokines characterising the balance of Th1 / Th2 / Th17 lymphocytes in the expired breath condensate, as well as to study the role of polymorphic variants of these cytokine genes in Krasnoyarsk children with bronchial asthma (BA), depending on the severity and of the disease control level.

Material and methods. The study group included 104 BA children and 65 children without bronchopulmonary and allergic diseases in medical history. The diagnosis, severity and disease control level were established in accordance with the recommendations by the GINA working group. Children were divided into groups depending on the severity and BA control level. Research material was considered to be the expired breath condensate (EBC) and DNA from peripheral blood. DNA isolation was carried out by the sorbent method, and genotyping was performed by the real-time PCR method. EBC was collected using the RTube Exhaler Breath Condensate Collector. The concentration of cytokines in native EBC samples was determined using the MagPix multiplex immunoassay system. The results were processed using the Statistica software package for Windows 10.0 and Microsoft Excel, 2007. The allele and genotype frequencies were compared with both an online calculator and the χ -square test. An odds ratio (OR) with a 95 % confidence interval (CI) was carried out to associate the genetic markers with pathology phenotypes.

Results. When comparing the genotype and allele frequencies of IL13 rs1800925 polymorphism in BA and control groups, we demonstrated a statistically significant difference for the CC genotype and the T allele. In addition, the prevalence of genotype AA IL17A rs2275913 was found to be higher in the group

with controlled BA, as well as in the group with medium BA severity. There were no statistically significant differences in the polymorphisms IL4 rs2243250, IL5 rs2069812, IFN γ rs2069705 between the patient groups and controls. When determined the concentration of cytokines in EBC, only trace amounts of the analytes under study were revealed. The concentration values for the IL-13, IL-17A and IL-4 cytokines were slightly above the sensitivity threshold of the method and the kit used. IFN- γ and IL-5 were detected only in two patients.

Conclusion. No association of polymorphic genes with cytokine concentration levels in the expired breath condensate was found in the study.

Key words: bronchial asthma, children, cytokines, exhaled breath condensate, polymorphism, DNA, gene.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Malinchik MA, Gorbacheva NN, Belenjuk VD, Konopleva OS, Smolnikova MV. The cytokine level in exhaled breath condensate and cytokine genes polymorphism in children with bronchial asthma. *Siberian Medical Review*. 2022;(2):78-87. DOI: 10.20333/25000136-2022-2-78-87

Введение

Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных хронических воспалительных заболеваний дыхательных путей, характеризующееся проявлением гиперреактивности бронхов, обратимой обструкцией дыхательных путей, а также приступами хрипов и кашля [1]. Распространенность и заболеваемость астмой регулярно увеличиваются, и, по оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), более 300 миллионов человек в мире страдают от этой болезни [2].

Большинство из нынешних методов диагностики БА не подходят для массового скрининга, поскольку являются инвазивными травматичными методами, вследствие чего их не рекомендуется проводить у тяжелых больных, особенно детей [3]. Поэтому в последнее время большое внимание уделяется разработке более простых и неинвазивных методов исследования локального воспаления дыхательных путей, к числу которых относится анализ конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) [3, 4]. В КВВ было изучено большое количество медиаторов воспаления, окислительного и нитрозативного стресса, включая аммиак, перекись водорода, лейкотриены, оксиды азота, пептиды, а также цитокины. Таким образом, КВВ можно использовать для отбора проб секретов дыхательных путей, а измерения медиаторов воспаления обеспечивает неинвазивный метод оценки воспаления легких [4].

Как известно, центральную роль в патофизиологии астмы играет воспаление, которое представляет собой взаимодействие различных типов клеток и множества вырабатываемых ими медиаторов, в частности цитокинов, с дыхательными путями, что в итоге приводит к характерным патофизиологическим особенностям заболевания [5]. Открытие и описание субпопуляций лимфоцитов Th1- и Th2-типов повлекло за собой более глубокое понимание развития и регуляции воспаления дыхательных путей при астме. Позднее в моделях аллергического воспаления на животных появились доказательства того, что при астме у человека сдвиг или склонность к профилю Th2-цитокинов приводит к эозинофильному воспалению, характерному для астмы [6]. Кроме того, образование цитокинов Th2-типа объясняет

перепроизводство IgE, присутствие эозинофилов и развитие гиперреактивности дыхательных путей. Однако, позднее была описана новая субпопуляция лимфоцитов – Th17, секретирующая IL-17 и другие цитокины. Недавнее исследование свидетельствует о том, что, Th1- и Th17-лимфоциты подобно Th2-клеткам влияют на различные аспекты воспаления и бронхиальной гиперреактивности при БА [7].

Вырабатываемые этими субпопуляциями лимфоцитов цитокины образуют своеобразную интегрированную сеть, связывая компоненты иммунной системы между собой, а также иммунную систему с другими системами организма (нервной, эндокринной) [8]. Продуцируемый Th2-клетками IL-4 – ключевой элемент иммунной системы, необходимый для регуляции ответа на аллерген посредством увеличения экспрессии IgE у детей за счет усиления трансформации и пролиферации В-лимфоцитов [9]. Более того, он выступает в роли фактора роста, способствуя дифференцировке Th2-клеток и тучных клеток [10].

Схожими функциями с IL-4 обладает IL-13, который также занимает центральное место в патогенезе астмы. Некоторые наиболее важные эффекты IL-13 включают увеличение дифференцировки бокаловидных клеток, активацию фибробластов, повышение гиперчувствительности бронхов и переключение продукции В-антител с IgM на IgE [11]. Недавние исследования показали, что продукция IL-13 у здоровых людей преобладает над продукцией IL-4, что может быть связано с их однонаправленными эффектами [12].

Помимо увеличения продукции IgE, одним из основных признаков воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме является преобладание эозинофилов, организованное аллергической сенсибилизацией и иммунным ответом, опосредованным Th2-лимфоцитами [13]. Таким образом, астму принято классифицировать на эозинофильную, и неэозинофильную. Наиболее мощным активатором эозинофилов является IL-5, продуцируемый Th2-лимфоцитами [14]. У пациентов с диагностированной БА наблюдается повышение уровня IL-5 в сыворотке крови и биоптатах бронхов, а также увеличение эозинофилов крови [15].

Нейтрофильную астму вызывают цитокины семейства IL-17, включающее в себя IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (теперь известный как IL-25) и IL-17F. Было доказано, что именно IL-17A способствует развитию гиперчувствительности дыхательных путей, а его уровень в мокроте при БА значительно увеличивается [16]. IL-17A также стимулирует экспрессию муцина MUC5B, потенциально участвуя в ремоделировании дыхательных путей [17].

Важнейшим цитокином, продуцируемым Th1-клетками и регулируемым множеством особенностей патогенеза БА, является IFN- γ , к основным функциям которого относятся подавление высвобождения Th2-цитокинов, ингибирование притягивания эффекторных клеток к месту воспаления, блокировка переключения изотипа IgE в В-клетках и др. [18]. Показано, что низкие уровни IFN- γ предрасполагают к развитию атопической астмы у детей [19].

Учитывая все вышесказанное можно сказать, что все три субпопуляции Th-лимфоцитов играют значительную роль при бронхиальной астме, а анализ КВВ открывает новые перспективы при проведении неинвазивной диагностики заболеваний органов дыхания. Благодаря тому, что методика проста в использовании и не имеет никаких ограничений, это, в свою очередь, дает возможность применять ее в отношении самых маленьких пациентов, даже новорожденных. Однако, точная клиническая роль цитокинов, выявленных в КВВ, при отдельных респираторных нозологиях, в частности БА, в настоящее время не установлена и является предметом большого количества исследовательских проектов.

Цитокины и другие медиаторы воспаления – важные факторы патофизиологии заболевания. Известно, что однонуклеотидные полиморфизмы генов цитокинов ассоциированы не только с уровнем их концентрации в сыворотке крови, но также с развитием патологии. Генетические исследования показали, что в отношении астмы было изучено более полутора тысяч генов (по данным ресурса <https://phgkb.cdc.gov/PHGKB/startPagePhenoPedia.action>). Несколько полных геномных скринингов указывают на хромосому 5q31–33 как на главный локус восприимчивости к астме и высоким значениям IgE. Эта область включает кластер генов цитокинов, кодирующих IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 и IL-12 [20].

Таким образом, целью данного исследования было оценить уровни цитокинов, характеризующих баланс Th1/Th2/Th17 лимфоцитов в конденсате выдыхаемого воздуха, а также исследовать роль полиморфных вариантов генов этих цитокинов у детей г. Красноярск при бронхиальной астме в зависимости от степени тяжести и уровня контроля заболевания.

Материал и методы

В исследование были включены 104 пациента с бронхиальной астмой: 70 мальчиков и 34 девочки в возрасте от 8 до 18 лет и 65 сопоставимых по полу и возрасту детей без бронхолегочных и аллергических заболеваний в анамнезе. Диагностика, степень тяжести и уровень контроля заболевания были установлены в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA (Global Initiative for Asthma, updated, 2021). Помимо этого, использован тест по контролю над астмой (АСТТМ). Все дети с БА были разделены на группы в зависимости от степени тяжести и уровня контроля заболевания (табл. 1). Забор материалов для исследования и все испытания были проведены после получения письменного информированного согласия родителей.

Таблица 1

Распределение детей по группам в зависимости от степени тяжести и уровня контроля БА, % (n)

Table 1

Distribution of children into groups depending on the severity and level of BA control, % (n)

Количество исследуемых детей	Степень тяжести бронхиальной астмы (n=104)		Уровень контроля бронхиальной астмы (n=104)	
	Легкая (n=58)	Тяжелая (n=46)	Контролируемая (n=68)	Неконтролируемая (n=36)
Мальчики	37,5 (39)	29,8 (31)	43,3 (45)	24,0 (25)
Девочки	18,3 (19)	14,4 (15)	22,1 (23)	10,6 (11)

Материалом исследования являлись конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ) и венозная кровь, забранная в вакутейнерные пробирки с ЭДТА. Из периферической крови была проведена экстракция молекул ДНК с использованием набора DAtom DNAPrep100 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) для дальнейшего генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов генов IL4 rs2243250, IL5 rs2069812, IL13 rs1800925, IL17A rs2275913, IFN γ rs2069705 с помощью метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), используя специфические однонуклеотидные праймеры и флуоресцентно-меченые зонды (TagMan) (ООО «ДНК-синтез», Россия) по протоколу производителя.

Сбор КВВ осуществляли в утренние часы натощак после двукратного ополаскивания ротовой полости водой, используя прибор RTube Exhaler Breath Condensate Collector (USA, Respiratory Research), позволяющий собрать достаточное количество образца за короткий промежуток времени. Сбор проводили в сидячем положении в течение 5-ти минут спокойного дыхания ребенка с использованием носового зажима для предотвращения дыхания через нос. После, измеряли объем собранного конденсата (если не хватало, то повторяли процедуру через 3-5 минут

отдыха) и помещали пробирки в низкотемпературный морозильник (-80 °С), где они хранились до проведения анализа.

Концентрацию цитокинов в нативных образцах КВВ определяли с помощью системы мультиплексного иммуноанализа MagPix (USA, Luminex), позволяющей определять большое количество анализов в одной лунке с небольшим количеством образца. Для проведения анализа был использован набор реагентов Milliplex Map Human High Sensitivity T Cell Panel (USA, Merck Millipore), содержащий следующую панель анализов – IFN- γ , IL-12B (p70), IL-13, IL-17A, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, TNF- α . Считывание результатов производилось с помощью программы Analyst. Поскольку нами были прогенотипированы полиморфизмы генов IL4, IL5, IL13, IL17A, IFN γ , то были оценены уровни концентрации для следующих анализов: IL-4, IL-5, IL-13, IL-17A, IFN- γ .

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica для Windows 10.0 (StatSoftInc., США, 2010) и Microsoft Excel, 2007 (Microsoft, США). При множественных сравнениях количественных показателей согласно критерию Краскела-Уоллиса определялись межгрупповые различия, затем проводились попарные сравнения с помощью критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.

Частоту встречаемости анализируемых признаков выражали в абсолютных и относительных значениях. Статистически значимыми считались различия на уровне значимости $p < 0,05$. Распределение генотипов по полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (ПХВ) с помощью критерия χ^2 . Отношение шансов (ОШ) с 95 %-ным доверительным интервалом (ДИ) проводилось для оценки связи между генетическими маркерами патологии и ее фенотипами.

Результаты и обсуждение

Исследование концентрации цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха

Для анализа выраженности иммуновоспалительного процесса нами было проведено исследование содержания ряда цитокинов в нативных образцах КВВ двух исследуемых групп: больные БА и контроль.

Несмотря на то, что для определения концентрации белков был использован мультиплексный анализ, обладающий высокой чувствительностью, в КВВ были обнаружены лишь «следовые» количества исследуемых анализов. Таким образом, IL-13, IL-17A и IL-4 были чуть выше порога чувствительности используемого метода и тест-системы у 26 %, 16 % и 22 %, соответственно, среди пациентов с астмой и у 25 %, 3 % и 15 %, соответственно, среди детей из контрольной группы. Кроме того, IFN- γ и IL-5 удалось обнаружить

лишь у 2 пациентов: с легкой степенью тяжести и контролируемым течением БА (IL-5) и легкой степенью тяжести и неконтролируемым течением БА (IFN- γ).

Значения концентраций исследуемых анализов, которые показали уровни ниже порога чувствительности прибора и набора реагентов, не были использованы для дальнейшего статистического анализа. Результаты полученных данных о концентрации обнаруженных цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха не показали статистически значимых отличий между двумя исследуемыми группами, за исключением IL-13 ($p=0,003$) (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация цитокинов в КВВ больных БА и контрольной группы, Me (Q0,25-Q0,75), pg/mL

Table 2

Concentration of cytokines in EBC in patients with BA and control group, Me (Q0,25-Q0,75), pg/mL

Показатель	Группы			P
	Бронхиальная астма	Показатель	Контрольная группа	
IL-13 (n=27)	0,008 (0,008-0,010)	IL-13 (n=17)	0,000 (0,000-0,008)	0,003
IL-17A (n=17)	0,001 (0,000-0,007)	IL-17A (n=2)	0,010 (0,000-0,020)	0,906
IL-4 (n=23)	0,100 (0,100-0,230)	IL-4 (n=10)	0,100 (0,100-0,230)	0,969

Затем нами был проведен анализ содержания цитокинов в группе детей с БА в зависимости от степени тяжести и уровня контроля заболевания по сравнению с детьми из группы контроля. Концентрации белков IL-13, IL-17A и IL-4 были обнаружены во всех подгруппах больных. До этапа попарного сравнения для каждого из анализируемых белков был рассчитан критерий Краскела-Уоллиса, согласно которому статистически значимые отличия для подгрупп в зависимости от степени тяжести и уровня контроля БА имеются только для IL-13 ($p=0,007$ и $p=0,004$, соответственно). Затем были проведены попарные сравнения с использованием критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони равной 0,018.

Полученные данные также не показали статистически значимых отличий между группами, за исключением IL-13, уровни концентрации которого оказались выше в группах больных БА детей в зависимости от степени тяжести ($p_{1,3}=0,009$ и $p_{2,3}=0,016$) и уровня контроля ($p_{1,3}=0,017$ и $p_{2,3}=0,007$) по сравнению с детьми контрольной группы. Это говорит о том, что IL-13 играет одну из ключевых ролей в патогенезе БА, а уровни его концентрации варьируют в зависимости от степени тяжести и уровня контроля заболевания.

Несмотря на отсутствие статистически значимых отличий между исследуемыми группами по IL-4, уровни концентрации данного цитокина были

Таблица 3

Концентрация цитокинов в КВВ у больных БА в зависимости от степени тяжести и уровня контроля заболевания, Me (Q0,25-Q0,75), pg/mL

Table 3

Concentration of cytokines in EBC in patients with BA depending on the severity and on the level of the disease control, Me (Q0,25-Q0,75), pg/mL

Степень тяжести бронхиальной астмы						p
Показатель	Легкая степень БА (1)	Показатель	Тяжелая степень БА (2)	Показатель	Контрольная группа (3)	
IL-13 (n=15)	0,008 (0,008-0,010)	IL-13 (n=12)	0,008 (0,008-0,010)	IL-13 (n=17)	0,000 (0,000-0,008)	1,3=0,0092,3=0,016
IL-17A (n=7)	0,005 (0,0004-0,145)	IL-17A (n=9)	0,000 (0,000-0,001)	IL-17A (n=2)	0,010 (0,000-0,020)	1,3=1,0002,3=0,699
IL-4 (n=12)	0,100 (0,100-0,305)	IL-4 (n=11)	0,100 (0,100-0,230)	IL-4 (n=10)	0,100 (0,100-0,230)	1,3=0,8432,3=0,916
Уровень контроля бронхиальной астмы						p
Показатель	КБА (1)	Показатель	НБА (2)	Показатель	Контрольная группа (3)	
IL-13 (n=14)	0,008 (0,008-0,008)	IL-13 (n=13)	0,008 (0,008-0,010)	IL-13 (n=17)	0,000 (0,000-0,008)	1,3=0,0172,3=0,007
IL-17A (n=15)	0,000 (0,000-0,000)	IL-17A (n=2)	0,000 (0,000-0,000)	IL-17A (n=2)	0,010 (0,000-0,020)	1,3=0,2322,3=0,205
IL-4 (n=12)	0,100 (0,100-0,230)	IL-4 (n=11)	0,100 (0,100-0,380)	IL-4 (n=10)	0,100 (0,100-0,230)	1,3=0,8692,3=0,778

выше в подгруппах больных детей, что также говорит о важной роли данного цитокина при БА. Концентрация IL-17A оказалась выше у детей группы контроля по сравнению с больными детьми, но при сравнении концентраций между подгруппами больных было показано, что уровень концентрации IL-17A выше в группе с легкой степенью БА, чем в группе с тяжелой степенью. Однако ставить под сомнение вовлеченность IL-17A в развитие БА будет некорректно, поскольку исследуемая выборка была слишком мала для получения значимых данных.

Цитокины, образуя так называемую цитокиновую сеть, выполняют функцию связующего звена между различными системами организма. Более того, повышенная или пониженная концентрация любого из них может быть связана с развитием множества различных патологий, таких как бронхиальная астма. Учеными зарубежных стран было показано, что повышенные уровни IL-4 и IL-13 в КВВ являются важными биомаркерами для выявления тяжелой степени астмы у детей [21].

IL-17A также принимает важное участие в патогенезе астмы, контролируя продукцию цитокинов, слизи и реактивность гладких мышц дыхательных путей. Matsunaga и соавторы опубликовали исследование концентраций IL-17A в КВВ у пациентов с астмой и здоровых контрольных субъектов. Оказалось, что данный белок умеренно повышен у пациентов с легкой степенью тяжести заболевания по сравнению с контролем [22], что соответствует результатам, полученным нами.

В одном из своих исследований Robroeks et al. показали, что ряд цитокинов участвуют в воспалительных процессах организма, в частности при БА. В число таких белков входили и IL-4, IL-5, IL-6 и IFN-γ, к тому же уровни их концентраций были

повышены у детей с астмой по сравнению с контрольной группой [23]. Эти данные также соответствуют результатам, полученным нами в ходе исследования.

В ходе проведенного нами исследования полученные результаты об уровнях концентрации цитокинов в КВВ у пациентов с БА, по сравнению с контрольной группой, не показали статистически значимых отличий, кроме IL-13, подтверждая данные о том, что этот белок способствует развитию бронхиальной астмы. Кроме того, данные о его концентрации позволяют распознавать степень тяжести и уровень контроля заболевания. Таким образом, анализ КВВ хоть и служит единственным неинвазивным методом для получения информации о наличии воспалительных процессов в организме, использование его для установления степени тяжести и уровня контроля такой распространенной патологии, как бронхиальная астма, требует дальнейших разработок стандартизированных методик сбора и анализа.

Исследование полиморфизмов генов исследуемых цитокинов

Бронхиальная астма является многофакторным воспалительным заболеванием, и его лечение требует понимания различных механизмов патогенеза и контроля.

Полученные в ходе нашего исследования частоты аллелей полиморфизмов гена IL4 rs2243250, гена IL5 rs2069812, гена IL13 rs1800925, гена IL17A rs2275913 и гена IFNγ rs2069705 в контрольной группе соответствуют распределению в европеоидных популяциях (табл. 4) согласно мировым данным (ресурс <http://www.ensembl.org>).

В результате сравнения частот аллелей и генотипов между группой контроля, общей группой больных БА, группами, выделенными на основании

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов у больных БА в зависимости от степени тяжести и уровня контроля заболевания, % (n)

Table 5

Frequency distribution of genotypes and alleles of the polymorphisms in BA patients depending on the severity and level of control of the disease, % (n)

Генотип/аллель	БА (1), n=104	КБА (2), n=68	НБА (3), n=36	Легкая степень БА (4), n=58	Тяжелая степень БА (5), n=46	Контроль (6), n=65	OR (CI)	p		
IL4 rs2243250										
CC	47,1 (49)	47,0 (32)	47,2 (17)	48,3 (28)	45,7 (21)	55,4 (36)	NS			
CT	45,2 (47)	45,6 (31)	44,5 (16)	43,1 (25)	47,8 (22)	30,8 (20)				
TT	7,7 (8)	7,4 (5)	8,3 (3)	8,6 (5)	6,5 (3)	13,8 (9)				
C	69,7 (145)	69,9 (95)	69,4 (50)	69,8 (81)	69,6 (64)	70,1 (94)				
T	30,3 (63)	30,1 (41)	30,6 (22)	30,2 (35)	30,4 (28)	29,9 (40)				
IL5 rs2069812										
CC	35,6 (37)	33,8 (23)	38,9 (14)	41,4 (24)	28,3 (13)	49,2 (32)	NS			
CT	52,9 (55)	54,4 (37)	50,0 (18)	48,3 (28)	58,7 (27)	40,0 (26)				
TT	11,5 (12)	11,8 (8)	11,1 (4)	10,3 (6)	13,0 (6)	10,8 (7)				
C	62,0 (129)	61,0 (83)	63,9 (46)	65,5 (76)	57,6 (53)	68,7 (92)				
T	38,0 (79)	39,0 (53)	36,1 (26)	34,5 (40)	42,4 (39)	31,3 (42)				
IL13 rs1800925										
CC	37,5 (39)	38,2 (26)	36,1 (13)	43,1 (25)	30,5 (14)	52,2 (33)	5,6: 0,40 (0,18-0,88)	p5,6=0,022		
CT	50,0 (52)	48,5 (33)	52,8 (19)	44,8 (26)	56,5 (26)	41,8 (28)	NS			
TT	12,5 (13)	13,3 (9)	11,1 (4)	12,1 (7)	13,0 (6)	6,0 (4)				
C	62,5 (130)	62,5 (85)	62,5 (45)	65,5 (76)	58,7 (54)	73,1 (98)			1,6: 1,63 (1,02-2,62)	p1,6=0,042
T	37,5 (78)	37,5 (51)	37,5 (27)	34,5 (40)	41,3 (38)	26,9 (36)	5,6: 1,92 (1,09-3,37)	p5,6=0,024		
IL17A rs2275913										
GG	35,6 (37)	39,7 (27)	27,8 (10)	39,7 (23)	30,4 (14)	47,7 (31)	NS			
GA	44,2 (46)	38,2 (26)	55,5 (20)	39,7 (23)	50,0 (23)	40,0 (26)				
AA	20,2 (21)	22,1 (15)	16,7 (6)	20,6 (12)	19,6 (9)	12,3 (8)				
G	57,7 (120)	58,8 (80)	55,6 (40)	59,5 (69)	55,4 (51)	67,9 (91)			1,6: 1,55 (1,00-2,45)	p1,6=0,050
A	42,3 (88)	41,2 (56)	44,4 (32)	40,5 (47)	44,6 (41)	32,1 (43)			5,6: 1,70 (1,00-2,94)	p5,6=0,050
IFN γ rs2069705										
TT	38,5 (40)	44,1 (30)	27,8 (10)	37,9 (22)	39,1 (18)	29,2 (19)	NS			
TC	38,5 (40)	33,8 (23)	47,2 (17)	37,9 (22)	39,1 (18)	49,2 (32)				
CC	23,0 (24)	22,1 (15)	25,0 (9)	24,2 (14)	21,8 (10)	21,6 (14)				
T	57,7 (120)	61,0 (83)	51,4 (37)	56,9 (66)	58,7 (54)	53,0 (71)				
C	42,3 (88)	39,0 (53)	48,6 (35)	43,1 (50)	41,3 (38)	47,0 (63)				

уровня контроля над заболеванием (КБА и НБА) и между группами, выделенными на основании степени тяжести заболевания не было выявлено статистически значимых отличий по полиморфизмам IL4 rs2243250, IL5 rs2069812, IFN γ rs2069705, несмотря на то, что в группе больных частота генотипов с минорным аллелем выше по сравнению с контролем (табл. 5).

Частота генотипа CC IL4 rs2243250 преобладает в контрольной группе по сравнению с астматиками (53,7 % и 47,8 %, соответственно). Помимо этого, частота генотипа CT выше в группе с тяжелой степенью заболевания, частота генотипа гомозиготного

по минорному аллелю TT в группе с тяжелой БА ниже, чем в группе с БА легкой степени (6,5 % и 8,6 %, соответственно).

Расположенный в промоторной зоне полиморфизм IL4 rs2243250 усиливает синтез IL-4 и сдвигает иммунный баланс в сторону Th2-клеток, а также способствует увеличению уровня IgE, непосредственно вовлеченного в патогенез астмы [24]. Результаты исследований по этому варианту гена IL4 показывают, что минорный аллель T стимулирует повышенную экспрессию гена и соответственно, способствует гиперпродукции IL-4, коррелируя с предрасположенностью к БА [25].

Таблица 4
Частоты аллелей исследуемых полиморфизмов, %
Table 4
Allele frequencies of the polymorphisms under study, %

Аллель	Экспериментальные данные	Данные ресурса http://www.ensembl.org
IL4 rs2243250		
С	70,1	83,0
Т	29,9	17,0
IL5 rs2069812		
С	68,7	69,0
Т	31,3	31,0
IL13 rs1800925		
С	73,1	75,0
Т	26,9	25,0
IL17A rs2275913		
G	67,9	62,0
A	32,1	38,0
IFN γ rs2069705		
Т	53,0	48,0
С	47,0	52,0

Полученные нами частоты генотипов, содержащих минорный аллель, полиморфизма IL5 rs2069812 преобладают в группе с тяжелой степенью БА, и можно предположить, что эти генотипы (СТ и ТТ) являются предрасполагающими к развитию БА тяжелой степени.

IL-5 является наиболее мощным активатором эозинофилов и продуцируется клетками Th2 и ILC2. Он играет важную роль в увеличении адгезии, выживаемости и высвобождении цитокинов, а также подавляет процесс апоптоза [14]. Зарубежными учеными, изучающими молекулярно-генетические маркеры БА, было выявлено, что генотип ТТ и аллель Т полиморфного локуса гена IL5 rs2069812 являются маркерами повышенного риска развития бронхиальной астмы, а также показано, что присутствие аллеля Т увеличивает экспрессию гена IL5 [14].

Также нами показано преобладание гомозиготного генотипа, содержащего аллель С, у здоровых лиц по полиморфизму гена IFN γ rs2069705, а генотипа ТТ – в группе с контролируемым течением заболевания.

Вклад IFN- γ в патогенез БА очевиден, поскольку уровень концентрации данного цитокина в сыворотке крови, а также КВВ повышен и коррелирует с тяжелой формой заболевания [26]. Данные по полиморфизму гена IFN γ rs2069705 очень малочисленны, к тому же, авторам не удалось обнаружить статистически значимых отличий между астматиками и группой контроля, однако, известно, что мутантный аллель Т ассоциирован с повышенным уровнем экспрессии гена [19].

При сравнении частоты генотипов полиморфизма IL13 rs1800925 было показано, что генотип СС преобладает в контрольной группе по сравнению с общей группой больных БА (OR 0,40 (0,18–0,88), $p=0,022$) и, является, по-видимому, протективным в отношении БА, поскольку помимо контрольной группы преобладает также при БА с контролируемым течением и БА легкой степени. При сравнении аллелей IL13 rs1800925 в исследуемых группах было обнаружено преобладание мутантного аллеля Т в общей группе астматиков (OR 1,63 (1,02–2,62), $p=0,042$) и определено, что аллель Т является фактором риска развития БА, так как частота генотипов, содержащих данный аллель, СТ и ТТ, в группе больных преобладает над таковыми у здоровых субъектов (56,5 % и 13,0 %, соответственно, против 41,8 % и 6,0 %).

Сверхэкспрессия IL-13 в легких вызывает воспаление, гиперсекрецию слизи, субэпителиальный фиброз и выработку эотаксина, подтверждая гипотезу о том, что IL-13 является важным медиатором астмы [22]. Наиболее значимым полиморфизмом IL13 при БА является rs1800925, расположенный в промоторной области гена. Zhigang Liu et al. показали, генотипы СТ и ТТ встречались чаще в группе больных [27]. Группой других ученых было выявлено, что процент минорного аллеля Т у пациентов с БА превышает частоту встречаемости того же аллеля в контроле, являясь фактором риска развития данной патологии [28].

Сравнивая частоты генотипов полиморфизма IL17A rs2275913, было показано, что частота встречаемости гомозиготного генотипа по мутантному аллелю (АА) выше в группе с контролируемым течением заболевания, а также в группе с легкой степенью тяжести БА (22,1 % и 20,7 %, соответственно), являясь, по-видимому, фактором риска для развития этих форм патологии. Более того было обнаружено статистически значимое отличие при сравнении частот аллелей между общей группой больных БА детей и контролем, а также группой с тяжелой степенью БА и группой контроля ($p_{1,6}=0,050$ и $p_{5,6}=0,050$, соответственно).

IL-17A является провоспалительным цитокином, играющим важную роль в патогенезе астмы. Cui Zhai et al. провели мета-анализ на выявление ассоциации между полиморфизмом IL17A и астмой, показав значительную связь между ними. В дальнейшем анализе подгрупп по возрасту и этнической принадлежности аллель G гена IL17A rs2275913 был значимо связан со снижением риска возникновения астмы у детей и азиатов [29]. Группой других ученых было доказано, что аллель А связан с аномальной функцией легких и уровнем общего IgE в сыворотке больных БА [30].

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод о том, что вклад функциональных полиморфизмов генов цитокинов в развитие БА различной степени тяжести и уровня контроля весьма противоречив в зависимости от размера выборки, этнической принадлежности. Следовательно, выявление генетических маркеров бронхиальной астмы должны проводиться и дальше на группах, численность которых будет достаточной для получения статистически значимых результатов.

Известно, что уровни концентрации медиаторов воспаления генетически опосредованы, но поскольку в образцах КВВ исследуемых нами групп количество пациентов со значениями концентраций аналитов выше уровня чувствительности прибора и набора реагентов было мало, то нами не было выявлено ассоциации полиморфных вариантов генов с уровнями концентрации цитокинов. Но несмотря на это, мы будем продолжать дальнейшие исследования в этой области, ведь очень важно своевременно и максимально безболезненно для ребенка выявить предрасположенность к бронхиальной астме, либо предотвратить ее переход в более тяжелую форму.

Заключение

Результаты проведенного исследования по оценке уровня цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха показали, что цитокины, такие как IL-4, IL-5, IL-13, IL-17A и IFN- γ , могут быть детектированы у детей с БА в образцах КВВ с помощью высокочувствительного мультиплексного анализа. Однако, концентрации зачастую близки к нулевым значениям, либо ниже порога чувствительности используемого метода и набора реагентов. Несмотря на это, показаны статистически значимые отличия уровня IL-13 у больных астмой по сравнению с контролем ($p=0,003$), а также между группами, выделенными на основании степени тяжести и контроля над течением заболевания.

В результате сравнения частот генотипов полиморфизма IL13 rs1800925 было показано, что генотип ТТ статистически значимо чаще встречается у больных астмой по сравнению с контрольной группой. Частота мутантного аллеля Т, ассоциированного с повышенной концентрацией этого цитокина, чаще встречается у больных БА (41,3% в сравнении с контролем 26,9%), имеющих воспаление. Наряду с этим в отношении IL-17A также были обнаружены статистически значимые отличия при сравнении частот аллелей между общей группой больных БА детей и контролем, а также группой с тяжелой степенью БА и группой контроля. Таким образом, аллель А является предрасполагающим к развитию БА тяжелой степени, поскольку связан с нарушением функций легких и уровнем общего IgE в сыворотке больных БА.

Полученные нами результаты и результаты других исследований подчеркивают необходимость разработки более чувствительных методов анализа КВВ, а также стандартизации методики сбора образцов, чтобы стало возможным использовать анализ содержания различных аналитов КВВ, в частности цитокинов, в клинической практике как неинвазивной диагностики заболеваний дыхательной системы не только на взрослых пациентах, но также на маленьких детях, включая новорожденных.

Бронхиальная астма относится к мультифакторным заболеваниям и изучение генетических основ по-прежнему является актуальной задачей. Поэтому выявление ассоциаций различных генов цитокинов с развитием БА позволит более точно понимать механизмы ее патогенеза, а в совокупности с анализом конденсата выдыхаемого воздуха - выявлять различные фенотипы, а также устанавливать степень тяжести и уровень контроля заболевания.

Литература / References

1. Mims JW. Asthma: definitions and pathophysiology. *International Forum of Allergy and Rhinology*. 2015;5 (Suppl 1):2-6. DOI: 10.1002/alr.21609
2. Peters SP, Ferguson G, Deniz Y, Reisner C. Uncontrolled asthma: a review of the prevalence, disease burden and options for treatment. *Respiratory Medicine*. 2006;100(7):1139–1151. DOI: 10.1016/j.rmed.2006.03.031
3. Анаев Э, Чучалин А. Конденсат выдыхаемого воздуха в диагностике и оценке эффективности лечения болезней органов дыхания. *Пульмонология*. 2006;(4):12–20. [Anaev E, Chuchalin A. Exhaled breath condensate in the diagnosis and assessment of the effectiveness of treatment of respiratory diseases. *Russian Pulmonology*. 2006;(4):12–20. (In Russian)]
4. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001;(163):1693–1722. DOI: 10.1164/ajrccm.163.7.2009041
5. Kips JC. Cytokines in asthma. *European Respiratory Journal*. 2001;(34):24–33. DOI: 10.1183/09031936.01.00229601
6. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annual Review of Immunology*. 2004;(22):789–815. DOI: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104716
7. Нурдина МС, Купаев ВИ. Взаимосвязь уровня IL-17, IL-10 со степенью контроля бронхиальной астмы. *Вестник современной клинической медицины*. 2017;10(3):35–38. [Nurdina MS, Kupaev VI. Correlation between serum IL-17 and IL-10 level and asthma control. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2017;10(3):35–38. (In Russian)] DOI: 10.20969/VSKM.2017

8. Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, Ruzinski JT, Radella F, Park DR, Pugin J, Skerrett SJ, Hudson LD, Martin TR. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001;164(10 Pt 1):1896-1903. DOI: 10.1164/ajrccm.164.10.2104013
9. Poulsen LK, Hummelshoj L. Triggers of IgE class switching and allergy development. *Annals of Medicine*. 2007;39(6):440-456. DOI: 10.1080/07853890701449354
10. Weiss DL, Brown MA. Regulation of IL-4 production in mast cells: a paradigm for cell-type-specific gene expression. *Immunological Reviews*. 2001;179(1):35-47. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2001.790104.x
11. Beghe B, Hall IP, Parker SG, Moffatt ME, Wardlaw A, Connolly MJ, Fabbri LM, Ruse C, Sayers I. Polymorphisms in IL13 pathway genes in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Allergy*. 2010;65(4):474-481. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02167.x
12. Коненков ВИ, Авдошина ВВ, Ракова ИГ, Смольникова МВ, Гельфгат ЕЛ. Комплексная оценка уровня ConA-индуцированной продукции цитокинов в культуре мононуклеарных клеток периферической крови здоровых лиц. *Медицинская иммунология*. 2006;8(4):517-522. [Konenkov VI, Avdoshina VV, Rakova IG, Smol'nikova MV, Gel'fgat EL. Multiplex evaluation of ConA-induced production of twelve cytokines in the cultures of mononuclear cells from peripheral blood of healthy subjects. *Medical Immunology (Russia)*. 2006;8(4):517-522. (In Russian)] DOI: 10.15789/1563-0625-2006-4-517-522
13. Eltboli O, Brightling CE. Eosinophils as diagnostic tools in chronic lung disease. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2013;7(1):33-42. DOI: 10.1586/ers.12.81
14. Angulo EL, McKernan EM, Fichtinger PS, Mathur SK. Comparison of IL-33 and IL-5 family mediated activation of human eosinophils. *PLoS One*. 2019;14(9):e0217807. DOI: 10.1371/journal.pone.0217807
15. Corrigan CJ, Haczku A, Gemou-Engesaeth V, Doi S, Kikuchi Y, Takatsu K, Durham SR, Kay AB. CD4 T-lymphocyte activation in asthma is accompanied by increased serum concentrations of interleukin-5. Effect of glucocorticoid therapy. *American Review of Respiratory Disease*. 1993;147(3):540-547. DOI: 10.1164/ajrccm/147.3.540
16. Wang Y-H, Wills-Karp M. The Potential Role of IL-17 in Severe Asthma. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2011;11(5):388-394. DOI: 10.1007/s11882-011-0210-y
17. Fujisawa T, Chang MM, Velichko S, Thai P, Hung LY, Huang F, Phuong N, Chen Y, Wu R. NF-κB-Mediates IL-1β- and IL-17A-Induced MUC5B Expression in Airway Epithelial Cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2011;45(2):246-252. DOI: 10.1165/rcmb.2009-0313OC
18. Teixeira LK, Fonseca BPF, Barboza BA, Viola JPB. The role of interferon-gamma on immune and allergic responses. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2005;100(Suppl 1):137-144. DOI: 10.1590/s0074-02762005000900024
19. Kumar A, Ghosh B. A single nucleotide polymorphism (A-G) in intron 3 of IFNγ gene is associated with asthma. *Genes and Immunity*. 2008;(9):294-301. DOI: 10.1038/gene.2008.17
20. Renaud JC. New insights into the role of cytokines in asthma. *Journal of Clinical Pathology*. 2001;(54):577-589. DOI: 10.1136/jcp.54.8.577
21. Makieieva N, Malakhova V, Vasylychenko Y, Tsymbal V. Are level of IL-13 and IL-4 predictive for formation of chronic inflammation in children with asthma? *Advances in Respiratory Medicine*. 2020;(88):320-326. DOI: 10.5603/ARM.a2020.0108
22. Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, Ueshima K, Akamatsu K, Hirano T, Nakanishi M, Yamagata T, Minakata Y, Ichinose M. Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006;118(1):84-90. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.04.020
23. Robroeks CMHHT, van de Kant KDG, Jöbsis Q, Hendriks HJE, van Gent R, Wouters EFM, Damoiseaux JGMC, Bast A, Wodzig WKWH, Dompeling E. Exhaled nitric oxide and biomarkers in exhaled breath condensate indicate the presence, severity and control of childhood asthma. *Clinical and Experimental Allergy*. 2007;37(9):1303-1311. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2007.02788.x
24. Ризванова ФФ, Пикуза ОИ, Файзуллина РА, Гайфуллина РФ, Ризванов АА, Кравцова ОА. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов. *Практическая медицина*. 2010;6(45):41-43. [Rizvanova FF, Pikuza OI, Fajzullina RA, Gajfullina RF, Rizvanov AA, Kravcova OA. Genetic diagnostics: cytokine-gene polymorphism. *Practical Medicine*. 2010;6(45):41-43. (In Russian)]
25. Jin X, Zheng J. IL-4-C-590T locus polymorphism and susceptibility to asthma in children: a meta-analysis. *Journal de Pédiatrie*. 2021;97(3):264-272. DOI: 10.1016/j.jpmed.2020.05.005
26. Wang D, Zhong X, Huang D, Chen R, Bai G, Li Q, Yu B, Fan Y, Sun X. Functional polymorphisms of interferon-gamma affect pneumonia-induced sepsis. *PLoS One*. 2014;9(1):e87049. DOI: 10.1371/journal.pone.0087049
27. Liu Z, Li P, Wang J, Fan Q, Yan P, Zhang X, Han B. A meta-analysis of IL-13 polymorphisms and pediatric asthma risk. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2014;11(20):2617-2623. DOI: 10.12659/MSM.891017

28. Терещенко СЮ, Смольникова МВ, Каспаров ЭВ, Шахтшнейдер ЕВ, Малинчик МА, Коноплева ОС, Смирнова СВ. Роль генетического полиморфизма IL13 в развитии бронхиальной астмы у детей. *Медицинская иммунология*. 2020;22(5):907-914. [Tereshchenko SYu, Smol'nikova MV, Kasparov EV, SHAhtshnejder EV, Malinchik MA, Konopleva OS, Smirnova SV. Role of IL13 genetic polymorphism in the development of bronchial asthma in children. *Medical Immunology (Russia)*. 2020;22(5):907-914. (In Russian)] DOI: 10.15789/1563-0625-ROI-1986

29. Zhai C, Li S, Feng W, Shi W, Wang J, Wang O, Chai L, Zhang Q, Yan X, Li M. Association of interleukin-17a rs2275913 gene polymorphism and asthma risk: a meta-analysis. *Archives of Medical Science*. 2018;14(6):1204-1211. DOI: 10.5114/aoms.2018.73345

30. Chen J, Deng Y, Zhao J, Luo Z, Peng W, Yang J, Ren L, Wang L, Fu Z, Yang X, Liu E. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. *Journal of Clinical Immunology*. 2010;30(4):539-545. DOI: 10.1007/s10875-010-9391-8

Сведения об авторах

Малинчик Марина Александровна, аспирант, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана-Железняка, д. 3з; тел.: +7(391)2280681; e-mail: seapearl1995@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6350-8616>

Горбачева Нина Николаевна, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана-Железняка, д. 3з; тел.: +7(391)2280681; e-mail: n-n-gorbacheva@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3920-0694>

Беленок Василий Дмитриевич, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана-Железняка, д. 3з; тел.: +7(950)9717024; e-mail: dyh.88@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2848-0846>

Коноплева Ольга Сергеевна, к.м.н., младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана-Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2280681; e-mail: olya_tyutina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7203-7131>

Смольникова Марина Викторовна, к.б.н., руководитель группы молекулярно-генетических исследований, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана-Железняка, д. 3з; тел.: +7(391)2280681; e-mail: smarinv@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9984-2029>

Author information

Marina A. Malinchik, Postgraduate, junior researcher, Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3g, Str. Partisan-Zheleznyak, Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2280681; e-mail: seapearl1995@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6350-8616>

Nina N. Gorbacheva, Senior Researcher, Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3g, Str. Partisan-Zheleznyak, Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2280681; e-mail: n-n-gorbacheva@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3920-0694>

Vasilij D. Belenjuk, junior researcher, Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3g, Str. Partisan-Zheleznyak, Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(950)9717024; e-mail: dyh.88@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2848-0846>

Olga S. Konopleva, Cand.Med.Sci., junior researcher, Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3g, Str. Partisan-Zheleznyak, Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2280681; e-mail: olya_tyutina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7203-7131>

Marina V. Smolnikova, Ph.D. (Biology), Head of the Molecular Genetic Research Group, Leading Researcher, Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3g, Str. Partisan-Zheleznyak, Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2280681; e-mail: smarinv@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9984-2029>

Дата поступления 11.10.2021

Дата рецензирования 28.12.2021

Принята к печати 11.03.2022

Received 11 October 2021

Revision Received 28 December 2022

Accepted 11 March 2022