

# ФЕНОТИПЫ ГАПТОГЛОБИНА – БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

ВАСИЛЕВСКИЙ И.В.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

(Опубликовано: Фенотипы гаптоглобина - биологические маркеры бронхиальной астмы // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье, 2017.- № 1.- С.47 – 59).

## Резюме

В статье на основании собственного комплексного клинико-генетического исследования приведены результаты анализа распределения выявленных информативных метаболических маркеров (аминокислотных и липидных показателей) у детей с бронхиальной астмой в зависимости от принадлежности пациентов к определенным фенотипам гаптоглобина (Hr) для выявления индивидуальных фенотипических особенностей пациентов с бронхиальной астмой. Результаты проведенного исследования доказывают участие патобиологических процессов на молекулярном уровне (наличие эндотипов) в механизмах развития данного заболевания, что является важным и необходимым фактором при реализации стратегии персонификации проводимой диагностики и лечения бронхиальной астмы.

Обнаружен важный факт, что пациенты с БА и наличием фенотипа Hr 2-2 характеризуются более выраженной иммунологической реактивностью в сравнении с лицами, имевшими другие фенотипы Hr. С учетом полученных нами результатов исследования, можно с определенностью предположить, что фенотип Hr 2-2 является ассоциированным биологическим маркером бронхиальной астмы. Дальнейшие исследования с целью идентификации и определения биологических маркеров различных фенотипов и эндотипов бронхиальной астмы является перспективным как в научном, так и в практическом отношении.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, биологические маркеры, фенотипы гаптоглобина, молекулярные механизмы эндотипов бронхиальной астмы.

## PHENOTYPES HAPTOGLOBIN – BIOLOGICAL MARKERS OF ASTHMA

Vasilevski I.V.

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Summary

In the article on the basis of their own comprehensive clinical and genetic the exploration shows the results of analysis of the distribution of identified informative metabolic markers (amino acid and lipid parameters) in children with bronchial asthma depending on accessories patients to certain phenotypes haptoglobin (Hp) to identify individual phenotypic characteristics of patients with bronchial asthma. The results of the study prove participation patobiological processes at the molecular level (presence endotipovs) in the development of the mechanisms of the disease, which is an important and necessary factor in the implementation of the strategy pursued by the personification of the diagnosis and treatment of asthma. It discovered important fact that patients with asthma and the presence of the Hp 2-2 phenotype characterized by a more pronounced immune reactivity compared with those who had other Hp phenotypes. In view of our results of research, we can assume with certainty that the Hp 2-2 phenotype is associated biological marker of asthma. Further studies with the aim of identification and determination of biological markers of different phenotypes and endotipovs bronchial asthma - is promising both in scientific and practical terms.

**Keywords:** bronchial asthma, biological markers, phenotypes haptoglobin, endotipovs molecular mechanisms of asthma.

В респираторной медицине все шире используются биологические маркеры (БМ), являющиеся индикаторами биологических и патобиологических процессов [1,3,4]. Как указывает академик РАН, профессор Чучалин А.Г., проблема изучения БМ при патологии легких охватывает широкие области знаний от скрининга, стратификации рисков, диагностического процесса, оценки степени тяжести заболевания, контроля над течением болезни, идентификация фенотипов с той или иной патологией, что позволяет оптимизировать лечение пациентов с позиций персонализированной терапии. Для исследования роли БМ используют различный биологический материал, при этом изучение форменных элементов крови, ферментов, гормонов, других биохимических субстратов, традиционно является широко применяемым в научно-практической медицинской деятельности [17].

В последнее время при изучении различных патологических состояний большое значение придается гаптоглобину (Hp), открытому в 1938 г. М. Polonovski и М. Jayle. Ранее считали, что физиологическая роль Hp проявляется лишь участием в обмене железа. Современные научные данные свидетельствуют о широком спектре функций этого специфического белка в самых разнообразных процессах в организме, включая различные заболевания [2,20,23,25,33,36].

Гаптоглобин (Hp) представляет собой гликопротеин плазмы, синтезируемый в основном в печени. Гаптоглобин является тетрамерным белком, структурно напоминающим определенные иммуноглобулины, т.к. имеет две легкие цепи ( $\alpha$ ) и две тяжелые цепи ( $\beta$ ), ковалентно связанные друг с другом дисульфидными мостиками (SS). У человека гаптоглобин характеризуется молекулярной гетерогенностью, обусловленной генетическим полиморфизмом. Указанный полиморфизм проявляется в различиях молекулярной массы фенотипов гаптоглобина. Так, для Hp 1-1 молекулярная масса белка определена в размере 86 кДа, для Hp 2-1 – 86-300 кДа и 170-900 кДа составляет молекулярную массу Hp 2-2 [31].

Главная биологическая функция Hp состоит в связывании свободного гемоглобина (Hb) и предотвращении потери железа, а также повреждения почек при внутрисосудистом гемолизе, защите сосудистой стенки от деструктивных проявлений [24,32,39]. Выделяют 3 основных фенотипа гаптоглобина - фенотипы Hp 1-1, Hp 2-1 и Hp 2-2. Принадлежность людей к конкретным фенотипам Hp ассоциирована с развитием целого ряда распространенных заболеваний (сердечно-сосудистых, аутоиммунных, злокачественных новообразований и др.) [28,34,40]. Определение фенотипа гаптоглобина может помочь в прогнозе болезни и позволит улучшить результаты лечения с учетом индивидуальных особенностей пациентов. У человека, локус Hp является полиморфным, с двумя кодоминантными аллелями (Hp 1 и Hp 2), которые дают три различных фенотипа - Hp 1-1, Hp 2-1 и Hp 2-2. Соответствующие белки имеют структурные и функциональные различия, которые оказывают влияние на развитие, характер течения и исход ряда заболеваний [19,37]. На основании различий в молекулярной массе и электрической подвижности установлены фенотипы Hp 1-1, Hp 2-2 (гомозиготные) и смешанного Hp 2-1 (гетерозиготного). Возможность четкого определения типов Hp, постоянство их в течение жизни и наследование в строгом соответствии с менделевским распределением стали основанием для использования этого белково-углеводного соединения в качестве генетического маркера [43,45].

Помимо участия гаптоглобина в указанном выше метаболизме железа, согласно литературным данным, следует указать на наличие доказанных антиоксидантных свойств этого специфического белка, бактериостатического эффекта относительно ряда микроорганизмов, влияние гаптоглобина на течение инфекционных заболеваний, рака, атеросклероза, миастении, артрита, псориаза, системной красной волчанки, целиакии, сахарного диабета 1-го типа, воспалительных заболеваний кишечника [26,33,41,42].

Наряду с вышеуказанным, внимание исследователей направлено на дальнейшее изучение иммуномодулирующих свойств гаптоглобина. В частности, констатировано, что лица с фенотипом Hp 2-2 характеризуются более выраженной иммунологической реактивностью, проявляющейся в большей степени выработки антител после вакцинации в сравнении с

лицами, имевшими фенотипы Нр 1-1 и Нр 2-1 [22]. Показано, что гаптоглобин обладает значительной ингибирующей активностью в отношении биосинтеза простагландинов посредством воздействия на циклоксигеназу и липооксигеназу [38].

Arredouani M. с соавт., Perea J.N. с соавт. [21,34] установили важную роль гаптоглобина в модуляции баланса между лимфоцитами Th1 и Th2 в виде значимого влияния на продукцию хелперов 1 типа (Th1), что в итоге усиливает защиту организма против инфекций, противодействует существованию внутриклеточных паразитов, ингибирует образование хелперов 2 типа (Th2). Выявлен важный факт, что при наличии фенотипа Нр 1-1 образуется гораздо больше IL-6 и IL-10, в сравнении с принадлежностью к фенотипу Нр 2-2, и что высвобождение этих цитокинов происходит с участием рецепторов макрофагов CD163 [27].

В ранее проведенных исследованиях по выявлению маркеров и анализу форм наследственного предрасположения к бронхиальной астме (БА) у детей на основе комплексного клиничко-генетического анализа содержания аминокислот сыворотки крови и липидного спектра у детей, больных БА и их родственников 1-ой степени родства (семейная выборка), нами обнаружен ряд метаболических признаков, характеризующихся высокой степенью фенотипического различия их величин у здоровых и лиц с БА, а также наличием генетической ассоциации признака с бронхиальной астмой и значительной величиной у многих изучаемых метаболитов или их индексов коэффициента наследования признака ( $h^2$  в %) [3,4,5,6]. Выявленные метаболические признаки, характеризующиеся соответствием вышеперечисленным критериям, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика информативных метаболических маркерных признаков бронхиальной астмы по результатам клиничко-генетического анализа обследуемой семейной выборки

<b>№ по рангу</b>	<b>Исследуемый признак (исходный или индекс)</b>	<b>Величина критерия t фенотипического различия у здоровых и лиц с БА</b>	<b><math>h^2</math> (в %)</b>	<b>Генетическая ассоциация признака с БА</b>
<b>1.</b>	<b>АК-3/АК-7</b>	<b>13,92</b>	<b>50,0</b>	<b>Да</b>
<b>2.</b>	<b>АК-2/АК-7</b>	<b>12,08</b>	<b>53,0</b>	<b>Да</b>
<b>3.</b>	<b>АК-2/АК-8</b>	<b>11,40</b>	<b>82,4</b>	<b>Да</b>
<b>4.</b>	<b>АК-2</b>	<b>11,33</b>	<b>68,2</b>	<b>Да</b>
<b>5.</b>	<b>АК-7</b>	<b>10,80</b>	<b>46,3</b>	<b>Да</b>

<b>6.</b>	<b>ЛЛ/Л</b>	<b>10,26</b>	<b>62,8</b>	<b>Да</b>
<b>7.</b>	<b>АК-2/АК-6</b>	<b>9,45</b>	<b>83,8</b>	<b>Да</b>
<b>8.</b>	<b>ОФЛ/КФ</b>	<b>9,04</b>	<b>72,4</b>	<b>Да</b>
<b>9.</b>	<b>ОЛ/СХ</b>	<b>6,14</b>	<b>72,8</b>	<b>Да</b>

Целью настоящего исследования является анализ распределения выявленных информативных метаболических маркеров (аминокислотных и липидных показателей) у детей с бронхиальной астмой в зависимости от принадлежности пациентов к определенным фенотипам гаптоглобина (Нр) для выявления индивидуальных фенотипических особенностей течения заболевания у пациентов с БА.

### **Материал и методы**

Для реализации поставленных цели и задач исследования использована база данных, включавшая регистр из членов 171-й семьи, представленных родителями и детьми, в котором обследовано 184 ребёнка с бронхиальной астмой. На основе данных семейного регистра решались основные клинико-генетические задачи исследования. Кроме пробандов из семейной выборки по комплексной программе обследованы дополнительно 134 ребёнка с БА, таким образом, общая группа пациентов состояла из 318 детей в возрасте от 1 до 15 лет, больных БА и находившихся под наблюдением в детском аллергологическом центре г.Минска. Результаты изучения показателей метаболизма липидов, фосфолипидов, эфиров холестерина, липопротеидов, аминокислот и других анализируемых признаков у обследованных детей с БА сравнивали с аналогичными данными у лиц контрольной группы, включавшей в себя 122 ребёнка, не имевших признаков атопии и прямого отягощения по АЗ.

Диагноз бронхиальной астмы у пациентов установлен на основании клинических признаков, данных инструментально-лабораторного и аллергологического обследования. У пробандов определяли антропометрические показатели (массу тела, рост, масса-ростовой показатель, индекс тучности, индекс мышечного развития, поверхность тела) как в абсолютных, так и в относительных величинах, т.е. в процентах от должных параметров. Наряду с общеклиническим обследованием, включавшим в себя биохимический анализ крови, в проведенной работе основное внимание было уделено генетическим аспектам метаболизма при БА, установлению степени участия изучаемых показателей липидного и белкового обмена в формировании наследственного предрасположения к БА. В связи с этим, в биохимический комплекс программы обследования входили специальные методы изучения различных сторон метаболизма.

При определении метаболитов липидного обмена использована система многомерного биохимического анализа фракций нейтральных липидов, фосфолипидов, эфиров холе-

стерина плазмы крови обследованных лиц с помощью методов тонкослойной жидкостной хроматографии на пластинах "Силуфол" с последующей денситометрией и расчётом абсолютных величин фракций на основе определения содержания общих липидов плазмы крови сульфосфосванилиновым методом [11]. Общие фосфолипиды находили по эмпирической функции:  $ФЛ(мг/дл) = [1,8 \times ОЛ(мг/дл) \times ФЛ(\%)] : 100 + 58,4$  где ОЛ - общие липиды плазмы крови, ФЛ - относительное содержание фосфолипидов при тонкослойной хроматографии липидов плазмы. Липопротеиды фракционировали методом диск-электрофореза в ПААГ, определяли процентное содержание ЛПВП и ЛПНП, вычисляли отношение этих фракций. На основе значений ОХ, ТГ, ХС-ЛПВП плазмы крови нами проведен анализ распределения холестерина между фракциями ЛП.

Спектр свободных аминокислот (АК) в плазме крови обследованных лиц изучали с помощью тонкослойной хроматографии в зафиксированном слое ионообменной смолы на пластинах "Фиксион 50x8". Идентификацию АК осуществляли по отдельным стандартам. В связи с тем, что ряд фракций АК содержат несколько свободных аминокислот, в последующем изложении нами принято обозначать фракции, содержащие следующие АК, таким образом: 1-я фракция - аргинин; 2-я - гистидин + триптофан; 3-я - лизин; 4-я - фенилаланин; 5-я - тирозин; 6-я - лейцин + метионин; 7-я - валин + аланин; 8-я фракция - треонин + глутамин + цистеин.

Для определения в плазме крови содержания циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) применяли радиоиммунологические методы с помощью наборов реактивов фирм Шварц/Манн (США) и Clinical-Assays (США). Дети с БА обследовались в межприступном периоде, некоторые из них более одного раза. Вышеуказанная программа биохимических и радиоиммунологических исследований выполнена в ЦНИЛ Белорусской медицинской академии последипломного образования.

Анализируемые метаболические признаки у пациентов с БА, а также у детей контрольной группы сопоставлялись с генотипической характеристикой обследованных по ряду маркерных систем. Типы гаптоглобина определяли методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле с последующей специфической окраской гелей. В качестве популяционных показателей частот фенотипов по системе Нр нами взяты данные института искусствоведения, этнографии и фольклора АН БССР [16].

Для решения поставленных задач в рамках семейно-клинического исследования потребовалось привлечение многомерного подхода с использованием современных методов генетико-математического анализа. Математическое обеспечение проведенной работы осуществлено с помощью прикладной программной системы общего и медицинского генетического анализа - ППС ОМЕГА, созданной по заданию ГКНТ при СМ СССР в БелГИУВ

[12,15]. Математическая обработка данных была выполнена в Республиканском информационно-вычислительном центре МЗ РБ.

В проведенном нами исследовании применён комплекс методов генетического анализа, ориентированный на количественные признаки, включая концентрацию в крови того или иного определяемого метаболита. Средством изучения особенностей генетического и средового контроля признака является определение относительного вклада различных генетических и средовых групп факторов (компонент) в общую фенотипическую дисперсию анализируемых признаков с помощью генетико-дисперсионного анализа. Генетико-корреляционный анализ решает задачу исследования структуры связей признаков. В рамках ППС ОМЕГА эта задача ограничена анализом парных корреляций величин изучаемых признаков любого типа [13].

Все результаты биохимического обследования, паспортные данные, фенотипическая характеристика по изучаемым полиморфным системам, а у пробандов дополнительно антропометрические показатели, результаты общего анализа крови, показатели функции внешнего дыхания, данные анамнестические, иммунологические и прочие по специально разработанной таблице кодов вводимых признаков внесены в карты обследования. На основании информации этих карт был осуществлён ввод всех данных в ЭВМ, т.е. была создана база данных, которая после тщательной корректуры использована для математической обработки [14].

### Результаты и обсуждение

Нами проведен анализ распределения величин выявленных информативных метаболических маркеров у детей с БА с учетом фенотипов гаптоглобина (Hr) в сравнении с показателями здоровых детей (группа сравнения). Полученные результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Распределение величин информативных метаболических маркеров у детей с БА с наличием генетической ассоциации признака с заболеванием с учетом фенотипов гаптоглобина (Hr)

Изучаемые признаки	Здоровые дети	Пациенты с бронхиальной астмой			
	(1 группа)	Общая выборка (2 группа)	С фенотипом Hr 1-1 (3 группа)	С фенотипом Hr 2-1 (4 группа)	С фенотипом Hr 2-2 (5 группа)
	n; M ± m	n; M ± m	n; M ± m	n; M ± m	n; M ± m

<b>АК-3/АК-7</b>	95; 1,48±0,030	202; 0,97±0,030*	27; 1,01±0,073	89; 0,99±0,045	88; 0,94±0,050***
<b>АК-2/АК-7</b>	95; 1,10±0,020	202; 0,77±0,023*	27; 0,84±0,053	89; 0,79±0,036	88; 0,73±0,036***
<b>АК-2/АК-8</b>	95; 0,30±0,004	202; 0,22±0,006*	27; 0,25±0,015	89; 0,22±0,009	88; 0,22±0,010***
<b>АК-2 (%)</b>	95; 9,77±0,11	202; 8,07±0,15*	27; 8,85±0,39	89; 8,18±0,22	88; 7,72±0,24***
<b>АК-7 (%)</b>	95; 9,35±0,19	202; 11,44±0,17*	27; 11,07±0,37	89; 11,29±0,26	88; 11,76±0,30***
<b>ЛЛ/Л</b>	87; 0,17±0,005	321; 0,13±0,002*	39; 0,13±0,006	142; 0,13±0,003	140; 0,12±0,003***
<b>АК-2/АК-6</b>	95; 0,74±0,012	202; 0,60±0,015*	27; 0,68±0,037	89; 0,61±0,023	88; 0,57±0,023***
<b>ОФЛ/КФ</b>	86; 10,19±0,33	321; 12,47±0,24*	39; 12,32±0,70	142; 12,25±0,33	140; 12,73±0,38***
<b>ОЛ/СХ</b>	88; 6,45±0,09	326; 6,76±0,06**	40; 6,61±0,20	144; 6,76±0,10	142; 6,81±0,05***

Примечание: \* - различие величин в 1-ой и 2-ой группах -  $P < 0,001$

\*\* - различие величин в 1-ой и 2-ой группах -  $P < 0,01$

\*\*\* - различие величин в 1-ой и 5-ой группах -  $P < 0,001$

Полученные нами результаты анализа распределения величин информативных метаболических маркеров у детей с БА, генетически ассоциированных с заболеванием, с учетом наличия определенного фенотипа гаптоглобина в сравнении с аналогичными показателями здоровых детей (1 группа) свидетельствует о высокой степени достоверности вклада ( $P < 0,001$ ) в величину изучаемых маркерных признаков у детей с бронхиальной астмой в целом (2 группа) именно пациентов, имевших фенотип гомозиготного варианта гаптоглобина 2-2 (5 группа). Примечательно, что величина показателя различий  $t$  по Стьюденту у пациентов с фенотипом Нр 2-2 в сравнении с здоровыми детьми не имевших заболевания бронхиальной астмы оказалась равной для первых шести признаков (таблица 2) от 7,72 до 9,26.

В таблице 3 приведены результаты анализа распределения величин метаболических (аминокислотных и липидных) маркерных признаков, характеризующихся высокой степенью фенотипического различия их величин у здоровых и лиц с БА с отсутствием генетической ассоциации признака с бронхиальной астмой, но значительной величиной у многих



изучаемых метаболитов или их индексов коэффициента наследования признака ( $h^2$  в %). Помимо метаболических признаков в таблице 3 включен важный показатель, характеризующий состояние бронхиальной проходимости у обследуемых лиц, - индекс Тиффно (в %).

Таблица 3

Распределение величин информативных метаболических маркеров у детей с БА с отсутствием генетической ассоциации величин признаков с заболеванием с учетом фенотипов гаптоглобина (Hr)

Исследуемые признаки	Здоровые дети	Пациенты с бронхиальной астмой			
	(1 группа)	Общая выборка (2 группа)	С фенотипом Hr 1-1 (3 группа)	С фенотипом Hr 2-1 (4 группа)	С фенотипом Hr 2-2 (5 группа)
	n; M ± m	n; M ± m	n; M ± m	n; M ± m	n; M ± m
<b>ОЛ</b>	88; 414,58±7,54	327; 456,70±5,11*	40; 35,85±10,75	145; 446,50±7,58	142; 473,00±8,17**
<b>ЭХ</b>	88; 207,68±4,24	326; 228,38±2,98*	40; 218,96±8,64	144; 223,38±4,42	142; 236,11±4,52**
<b>ОХ</b>	88; 272,92±5,41	326; 297,94±3,68*	40; 291,92±8,42	144; 291,49±5,49	142; 307,59±5,66**
<b>ОЛ-ЛПВП</b>	60; 158,47±4,28	223; 200,11±4,11*	26; 86,58±13,93	95; 201,02±6,38	101; 202,88±5,92**
<b>Л</b>	87; 50,24±1,00	321; 55,05±0,60*	39; 54,22±1,41	142; 53,01±0,90	140; 57,36±0,92**
<b>ОЛ/КФ</b>	85; 36,13±1,01	318; 49,19±1,05*	39; 47,20±2,79	140; 47,83±1,48	140; 50,02±1,51**
<b>ОЛ/ЛЛ</b>	87; 53,84±1,89	319; 70,03±1,19*	39; 66,73±2,97	140; 67,68±1,88	140; 71,12±1,65**
<b>ЛЛ/ОХ</b>	87; 0,03±0,001	319; 0,02±0,001*	39; 0,02±0,001	140; 0,02±0,001	140; 0,02±0,001**
<b>ЭХ/ЛЛ</b>	87; 27,17±1,07	319; 35,37±0,70*	39; 34,70±1,96	141; 34,52±1,07	140; 35,96±0,99**
<b>ОФЛ/ЛЛ</b>	87; 14,74±0,40	321; 17,64±0,23*	39; 17,32±0,66	142; 17,53±0,38	140; 17,84±0,33**

<b>ИТ (%)</b>	114; 109,93±0,91	169; 78,99±6,08*	24; 81,04±2,20	65; 80,66±1,16	80; 78,15±1,37**
---------------	---------------------	---------------------	-------------------	-------------------	---------------------

Примечание: \* - различие величин в 1-ой и 2-ой группах -  $P < 0,001$

\*\* - различие величин в 1-ой и 5-ой группах -  $P < 0,001$

Данные, приведенные в таблице 3, наглядно иллюстрируют важную особенность патогенеза бронхиальной астмы у детей (2 группа), характеризующуюся достоверно выраженной дислипидемией в сравнении с здоровыми детьми (1 группа) ( $P < 0,001$ ). По вышеприведенным метаболическим признакам, как и в таблице 2, следует констатировать тот факт, что максимальный вклад в величину изучаемых метаболитов у пациентов с бронхиальной астмой нами выявлен у лиц с фенотипом гаптоглобина 2-2 ( $P < 0,001$ ). Высоко информативным в этом плане оказался показатель индекса Тиффно, который у пациентов с БА даже в внеприступном периоде достоверно ниже показателя группы сравнения. У пациентов с БА и наличием фенотипа Нр 2-2 вклад в общую величину индекса Тиффно по выборке в целом в сравнении с здоровыми детьми оказался самым значимым (показатель различий  $t$  по Стьюденту у пациентов с фенотипом Нр 2-2 в сравнении с здоровыми детьми был равным 19,32;  $P < 0,001$ ).

У пациентов с бронхиальной астмой уровень свободного холестерина в плазме крови был достоверно выше показателя здоровых детей (соответственно:  $69,13 \pm 1,00$  и  $65,23 \pm 1,51$  мг/дл,  $P < 0,05$ ). У детей с БА, имеющих фенотип Нр 2-2, уровень свободного холестерина в плазме крови был максимальным в сравнении с контролем ( $71,35 \pm 1,59$ ,  $P < 0,01$ ). Аналогичные данные получены нами относительно содержания в крови триглицеридов. В частности, при БА уровень их оказался значительно выше в сравнении с здоровыми детьми (соответственно:  $86,64 \pm 1,74$  против  $78,75 \pm 2,41$  мг/дл,  $P < 0,01$ ). Максимальное увеличение содержания триглицеридов в крови у пациентов с бронхиальной астмой обнаружено у лиц с фенотипом Нр 2-2 ( $90,85 \pm 3,08$ ,  $P < 0,01$ ).

Наше внимание привлек тот факт, что содержание в крови у пробандов циклического АМФ, патогенетически значимого для развития астмы субстрата, связанного с  $\beta$ -2-адренорецепцией, оказалось достоверно сниженным в сравнении с здоровыми детьми (соответственно:  $8,27 \pm 0,63$  против  $10,10 \pm 0,39$  нмоль/л,  $P < 0,01$ ). Анализ содержания цАМФ в крови у пациентов с различными фенотипами Нр выявил статистическую тенденцию к наибольшему снижению указанного метаболита у детей с БА и наличием фенотипа Нр 2-2 ( $8,35 \pm 0,90$  нмоль/л;  $0,1 > P > 0,05$ ). Характерно, что ранее нами был выявлен высокий вклад генетических факторов в детерминацию уровня в крови циклического АМФ (вклад генетических факторов оказался равным 89,6%, средовых – 10,4%). Таким образом, в определенном приближении лица с фенотипом Нр 2-2 характеризуются более значимым нарушением  $\beta$ -2-адренорецеп-

ции, способствующим усилению бронхиальной реактивности и возникновением бронхиальной обструкции, что является патофизиологической основой бронхиальной астмы.

В таблице 4 представлены результаты специфической диагностики у пациентов с БА методом кожного тестирования с использованием бытовых, пыльцевых, эпидермальных, пищевых аллергенов в зависимости от фенотипа гаптоглобина обследуемых лиц.

Таблица 4

Распределение результатов аллергологического обследования методом кожного тестирования у пациентов с БА с принадлежностью к разным фенотипам гаптоглобина

Фенотип Нр пациентов	Аллергологическое обследование (аллергены)	Общее число проб	Отрицательные пробы		Положительные пробы	
			N	%	N	%
			Нр 1-1	Бытовые	40	13
Пыльцевые	28	19		67,9	9	32,1
Эпидермальные	40	30		75,0	10	25,0
Пищевые	27	17		63,0	10	37,0
Нр 2-1	Бытовые	149	54	36,2	95	63,8
	Пыльцевые	78	65	83,3	13	16,7
	Эпидермальные	145	120	82,8	25	17,2
	Пищевые	73	37	50,7	36	49,3
Нр 2-2	Бытовые	148	49	33,1	99	66,9
	Пыльцевые	81	40	49,4	41	50,6
	Эпидермальные	145	103	71,0	42	29,0
	Пищевые	81	50	61,7	31	38,3

Примечание: в связи с недостаточным объемом выборки пациентов с фенотипом Нр 1-1 далее в тексте будут представлены результаты сравнительного изучения групп пациентов с БА, имеющих фенотип Нр 2-1 и Нр 2-2.

Сравнительный анализ полученных нами данных о распределении отрицательных и положительных результатов аллергологического обследования методом кожного тестирования у пациентов с БА, имеющих различные фенотипы гаптоглобина, с использованием бытовых, пыльцевых, эпидермальных и пищевых аллергенов выявил важные закономерности изучаемого явления. В частности, при обследовании пациентов с бытовыми аллергенами статистической разницы частоты положительных проб в зависимости от фенотипа гаптоглобина не выявлено. Однако, частота положительных диагностических проб с пыльцевыми аллергенами у лиц с фенотипом Нр 2-2 в сравнении с пациентами с фенотипом Нр 2-1 обнаружена высокодостоверно увеличенной ( $P < 0,001$ ).

Относительно результатов аллергологического обследования с эпидермальными аллергенами также получено достоверное превышение частоты положительных проб у пациентов с фенотипом Нр 2-2 в сравнении с детьми, имевшими фенотип Нр 2-1 ( $P < 0,001$ ). Результаты специфической диагностики у пациентов с БА методом кожного тестирования с использованием пищевых аллергенов в зависимости от фенотипа гаптоглобина обследуемых лиц иллюстрируют наличие статистической тенденции к уменьшению положительных проб с указанными типами аллергенов у лиц с фенотипом Нр 2-2 в сравнении с пациентами с фенотипом Нр 2-1 ( $0,1 > P > 0,05$ ).

Результаты проведенного нами исследования кроме вышеуказанного выявили важный факт, что для семей, отягощенных по бронхиальной астме, характерно сосредоточение лиц (пробандов и их родителей) с фенотипом Нр 2-2 и наличием эритроцитарного антигена В, что может свидетельствовать о включении гена Нр<sup>2</sup> вместе с геном В в общую полигенную систему, ответственную за механизм наследственного предрасположения к бронхиальной астме [2].

### **Выводы**

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что клинико-генетический подход позволяет приблизиться к более глубокому пониманию биологической сущности заболеваний, в частности, бронхиальной астмы, характеризующейся высокой степенью гетерогенности клинической картины [13,14]. Результаты проведенного исследования доказывают участие патобиологических процессов на молекулярном уровне (наличие эндотипов) в механизмах развития данного заболевания, что соответствует стратегии персонализации проводимого лечения бронхиальной астмы [35,44]. Истинная тяжесть заболевания определяется индивидуальной клинической картиной пациента, которая обусловлена уникальностью процессов метаболизма каждого индивидуума, характеризующей его генетическим статусом. Следовательно, для эффективного лечения необходим индивидуальный подход к каждому пациенту с мультифакториальной патологией [1,3,17].

Пациенты с БА и наличием фенотипа Нр 2-2 характеризуются более выраженной иммунологической реактивностью в сравнении с лицами, имевшими другие фенотипы Нр. Это согласуется с данными, полученными рядом исследователей, при изучении различных патологических состояний [21,23,27,30,36,45]. С учетом вышесказанного и полученных нами результатов исследования, можно с определенностью предположить, что фенотип гаптоглобина 2-2 является ассоциированным биологическим маркером бронхиальной астмы [4,5,8,9]. В заключение следует подчеркнуть, что мы разделяем мнение I.Kasvosve с соавт. [29] и других авторов [22,36] о том, что дальнейшие исследования по установлению роли различных фенотипов гаптоглобина при наиболее распространенных заболеваниях является

перспективным как в научном, так и в практическом отношении. Стратегия диагностики, лечения и профилактики болезней на основе молекулярно-генетических особенностей организма рассматривается сегодня как основа персонализированной медицины [7,10,18].

#### Литература

1. Балаболкин И.И., Булгакова В.А. // Фарматека, 2016.- № 14.- С. 14 – 19.
2. Василевский И.В. // Здоровоохранение Белоруссии, 1987.- № 8.- С. 9 - 12.
3. Василевский И.В. // Здоровоохранение, 1996.- № 1.- С.10 - 13.
4. Василевский И.В. // Медицинские новости, 1997.- № 12.- С.3 - 9.
5. Василевский И.В. Маркеры и формы наследственного предрасположения как основа прогнозирования бронхиальной астмы у детей: Автореф. дисс. доктора мед. наук.- Санкт-Петербург, 1992.- 40 с.
6. Василевский И.В. Способ прогнозирования течения бронхиальной астмы у детей.- Авторское свидетельство на изобретение № 1832201 от 13 октября 1992 г. Заявка № 4839031, приоритет изобретения 12 июня 1990 г.
7. Василевский И.В. // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье.- 2014.- № 6.- С 5 – 23.
8. Василевский И.В. // Аллергология и иммунология, 2016.- Том 17.- № 2.- С.128 – 129.
9. Василевский И.В. // Материалы VIII российской науч.практич. конференции «Аллергические и иммунопатологические заболевания – проблема XXI века. Санкт-Петербург - 2016».- СПб., 2016. - С. 14 – 15.
10. Курбачева О.М., Павлова К.С. // Российский аллергологический журнал, 2013. -№ 1. - С. 15 – 24.
11. Ростовцев В.Н., Резник Г.Е. // Лаб.дело, 1982.- № 4.- С. 26 – 30.
12. Ростовцев В.Н. , Куракин В.Е., Юреть Н.А. // Физические факторы и технические средства в медицине.-Минск, 1986.- С. 65 – 66.
13. Рубан А.П., Ростовцев В.Н., Василевский И.В. / В книге «Проблемы оценки и прогнозирования состояния индивидуального и популяционного здоровья при воздействии факторов риска».- СПб.: Крисмас, 2015.- С. 395 – 398.
14. Рубан А.П., Василевский И.В., Ростовцев В.Н. / Материалы IX Российского форума с международным участием «Здоровье детей: профилактика и терапия социально-значимых заболеваний. Санкт-Петербург - 2015».- СПб., 2015.- С. 144 – 145.
15. Рябкова О.И., Раскина А.В., Ростовцев В.Н. // Физические факторы и технические средства в медицине.-Минск, 1986.- С. 68 – 70.

16. Тегачо Л.И., Саливон И.И., Микулич А.И. Биологическое и социальное в формировании антропологических особенностей.-Минск: Наука и техника, 1981.- 286 с.
17. Чучалин А.Г. // Тер. архив, 2014.- N 3.- С.4 - 13.
18. Эндотипы и фенотипы астмы – от алгоритма обследования до подбора терапии // Медицинский совет, 2015.- № 4.- С. 8 – 18.
19. Adams J.N., Cox A.J., Freedman B.J. et al. // Cardiovascular Diabetology, 2013.- V.12.- P. 31 – 36.
20. Alayash A.I. Haptoglobin: // Clinica Chimica Acta, 2011.- V. 412.- P. 493 – 498.
21. Arredouani M., Matthijs P., Van Hoeyveld E. et al. // Immunology, 2003.- V. 108.- P. 144 - 151.
22. Carter K., Worwood M. // Int J Lab Hematol., 2007.- V. 29.- P. 92 - 110.
23. Galicia G., Ceuppens J.L. // Acute Phase Proteins - Regulation and Functions of Acute Phase Proteins, Prof. Veas F. (Ed.), 2011.- 368 p.
24. Goldenstein H., Levy N.S., Levy A.P. // Pharmacol Res., 2012.- V. 66.- P.1 - 6.
25. Graves K.L., Vigerust D.J. // Future Cardiol.,2016.- V. 12.- P. 471 -481.
26. Guetta J., Strauss M., Papp M. et al. // Dig Dis Sci., 2007.- V. 52.- P. 1279 - 1284.
27. Guetta J., Strauss M., Levy N. et al. // Atherosclerosis, 2007.- V. 191.- P. 48 - 53.
28. Jaffe R., Harari E., Gaspar T. et.al. // International Journal of Cardiology, 2014.- V. 171.- P. 307 – 308.
29. Kasvosve I., Speeckaert M.M., Speeckaert R. et al. // Adv Clin Chem., 2010.- V.50.- P. 23 - 46.
30. Khazaei H.A., Nakhaei A., Dashti G.A. et al. // Iran J Immunol., 2012.- V. 9.- P. 254 - 260.
31. Langlois M.R., Delanghe J.R. // Clinical Chemistry, 1996.- V.42.- P. 1589 - 1600.
32. Levy A.P., Asleh R., Blum S. et al. // Antioxidants & Redox Signaling, 2009. -V. 12.- P. 293 - 304.
33. MacKellar M., Vigerust D.J. // Clin Diabetes, 2016.-V. 34.- P. 148 - 157.
34. Navarrete-Perea J.,Magana Y.T., Torre P. et al. // Molecular and Biochemical Parasitology, 2016.- V. 207.- P. 61 – 67.
35. Ortega V.E., Meyers D.A., Blecker E.R. // Pharmgenomics Pers. Med., 2015.- V. 8.- P. 9 – 22.
36. Quaye I.K. // Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg., 2008.- V. 102.- P. 735 – 742.
37. Sadrzadeh S.M., Bozorgmehr J. // Am J Clin Pathol., 2004.- V.121.- Suppl:P. 97 - 104.
38. Saeed S.A., Ahmad N., Ahmed S. // Biochem. Biophys. Res. Commun., 2007.- V. 353.- P. 915 – 920.
39. Schaer C.A., Deuel J.W., Schildknecht D. et al. // Am. Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2016.- V.193.- P. 1111 – 1122.
40. Shteinberg M., Rivlin J., Gur M. et al. // Lung, 2015.- V. 193.- P. 1017 - 1021.

41. Tseng C.F., Lin C.C., Huang H.Y. et al. // *Proteomics*, 2004.- V. 4.- P. 2221 - 2228.
42. Viener H.L., Gorbatov R., Vardi M. et.al. // *Atherosclerosis*, 2015.- V. 239.- P. 232 – 239.
43. Vitalis Z., Altorjay I., Tornai I. et al. // *Human Immunology*, 2011.- V. 72.- P. 348 – 354.
44. Wenzel S. Phenotypes and endotypes: emerging concepts on asthma heterogeneity. *Global Atlas of Asthma*. Ed. C.A.Akdis, I.Agache.- 2013.- P. 34 – 35.
45. Wobeto V.P., Zaccariotto T.R., Sonati M.F. // *Genet.Mol.Biol.*, 2008.- V.31.- P. 602 – 620.

Литература (полное библиографическое описание)

1. Балаболкин И.И., Булгакова В.А. Генетические аспекты прогнозирования эффективности и безопасности фармакотерапии атопической бронхиальной астмы у детей // *Фарматека*, 2016.- № 14.- С. 14 – 19.
2. Василевский И.В. Генетическая структура системы АВО и гаптоглобина у детей, больных бронхиальной астмой // *Здравоохранение Белоруссии*, 1987.- № 8.- С. 9 - 12.
3. Василевский И.В. Генетические аспекты бронхиальной астмы // *Здравоохранение*, 1996.- № 1.- С.10 - 13.
4. Василевский И.В. Вопросы индивидуального прогнозирования бронхиальной астмы у детей // *Медицинские новости*, 1997.- № 12.- С.3 - 9.
5. Василевский И.В. Маркеры и формы наследственного предрасположения как основа прогнозирования бронхиальной астмы у детей: Автореф. дисс. доктора мед. наук.- Санкт-Петербург, 1992.- 40 с.
6. Василевский И.В. Способ прогнозирования течения бронхиальной астмы у детей.- Авторское свидетельство на изобретение № 1832201 от 13 октября 1992 г. Заявка № 4839031, приоритет изобретения 12 июня 1990 г.
7. Василевский И.В. Клиническая фармакология и педиатрическая практика // *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье*.- 2014.- № 6.- С 5 – 23.
8. Василевский И.В. Ассоциативная связь бронхиальной астмы с системами наследственного полиморфизма // *Аллергология и иммунология*, 2016.- Том 17.- № 2.- С.128 – 129.
9. Василевский И.В. Фенотип гаптоглобина 2-2 – ассоциированный биологический маркер бронхиальной астмы // *Материалы VIII российской науч.практич. конференции «Аллергические и иммунопатологические заболевания – проблема XXI века. Санкт-Петербург - 2016»*.- СПб., 2016. - С. 14 – 15.
10. Курбачева О.М., Павлова К.С. Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы: от патогенеза и клинической картины к выбору терапии // *Российский аллергологический журнал*, 2013. - № 1. - С. 15 – 24.

11. Ростовцев В.Н., Резник Г.Е. Количественное определение липидных фракций плазмы крови // Лаб.дело, 1982.- № 4.- С. 26 – 30.
12. Ростовцев В.Н. , Куракин В.Е., Юреть Н.А. Средства построения моделей диагноза в системе «Омега» // Физические факторы и технические средства в медицине.-Минск, 1986.- С. 65 – 66.
13. Рубан А.П., Ростовцев В.Н., Василевский И.В. Генетический подход к донозологической диагностике и прогнозу бронхиальной астмы у детей / В книге «Проблемы оценки и прогнозирования состояния индивидуального и популяционного здоровья при воздействии факторов риска».- СПб.: Крисмас, 2015.- С. 395 – 398.
14. Рубан А.П., Василевский И.В., Ростовцев В.Н. Фенотипы бронхиальной астмы у детей по результатам генетико-дисперсионного анализа / Материалы IX Российского форума с международным участием «Здоровье детей: профилактика и терапия социально-значимых заболеваний. Санкт-Петербург - 2015».- СПб., 2015.- С. 144 – 145.
15. Рябкова О.И., Раскина А.В., Ростовцев В.Н. Средства работы с базой данных в системе «Омега» // Физические факторы и технические средства в медицине.-Минск, 1986.- С. 68 – 70.
16. Тегакко Л.И., Саливон И.И., Микулич А.И. Биологическое и социальное в формировании антропологических особенностей.-Минск: Наука и техника, 1981.- 286 с.
17. Чучалин А.Г. Биологические маркеры при респираторных заболеваниях // Тер. архив, 2014.- N 3.- С.4 - 13.
18. Эндотипы и фенотипы астмы – от алгоритма обследования до подбора терапии // Медицинский совет, 2015.- № 4.- С. 8 – 18.
19. Adams J.N., Cox A.J., Freedman B.J. et al. Genetic analysis of haptoglobin polymorphisms with cardiovascular disease and type 2 diabetes in the diabetes heart study // Cardiovascular Diabetology, 2013.- V.12.- P. 31 – 36.
20. Alayash A.I. Haptoglobin: Old protein with new functions Review Article // Clinica Chimica Acta, 2011.- V. 412, Issues 7–8.- P. 493 – 498.
21. Arredouani M., Matthijs P., Van Hoeyveld E. et al. Haptoglobin directly affects T cells and suppresses T helper cell type 2 cytokine release // Immunology, 2003.- V. 108.- P. 144 - 151.
22. Carter K., Worwood M. Haptoglobin: A review of the major allele frequencies worldwide and their association with diseases // Int J Lab Hematol., 2007.- V. 29.- P. 92 - 110.
23. Galicia G., Ceuppens J.L. Haptoglobin Function and Regulation in Autoimmune Diseases // Acute Phase Proteins - Regulation and Functions of Acute Phase Proteins, Prof. Veas F. (Ed.), 2011.- 368 p.



24. Goldenstein H., Levy N.S., Levy A.P. Haptoglobin genotype and its role in determining heme-iron mediated vascular disease // *Pharmacol Res.*, 2012.- V. 66.- P.1 - 6.
25. Graves K.L., Vigerust D.J. Hp: an inflammatory indicator in cardiovascular disease // *Future Cardiol.*,2016.- V. 12.- P. 471 -481.
26. Guetta J., Strauss M., Papp M. et al. Haptoglobin polymorphisms are associated with Crohn's disease, disease behavior, and extraintestinal manifestations in Hungarian patients // *Dig Dis Sci.*, 2007.- V. 52.- P. 1279 - 1284.
27. Guetta J., Strauss M., Levy N. et al. Haptoglobin genotype modulates the balance of Th1/Th2 cytokines produced by macrophages exposed to free hemoglobin // *Atherosclerosis*, 2007.- V. 191.- P. 48 - 53.
28. Jaffe R., Harari E., Gaspar T. et.al. Haptoglobin genotype does not predict extent of coronary artery calcification in a prospective cohort of patients with type 2 diabetes // *International Journal of Cardiology*, 2014.- V. 171.- P. 307 – 308.
29. Kasvosve I., Speeckaert M.M., Speeckaert R. et al. Haptoglobin polymorphism and infection // *Adv Clin Chem.*, 2010.- V.50.- P. 23 - 46.
30. Khazaei H.A., Nakhaei A., Dashti G.A. et al. Association of haptoglobin phenotypes with serum levels of IgE and IgA in allergic rhinitis patients // *Iran J Immunol.*, 2012.- V. 9.- P. 254 - 260.
31. Langlois M.R., Delanghe J.R. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans // *Clinical Chemistiy*, 1996.- V.42.- P. 1589 - 1600.
32. Levy A.P., Asleh R., Blum S. et al. Haptoglobin: Basic and Clinical Aspects // *Antioxidants & Redox Signaling*, 2009. -V. 12.- P. 293 - 304.
33. MacKellar M., Vigerust D.J. Role of Haptoglobin in Health and Disease: A Focus on Diabetes // *Clin Diabetes*, 2016.-V. 34.- P. 148 - 157.
34. Navarrete-Perea J.,Magana Y.T., Torre P. et al. Role of porcine serum haptoglobin in the host-parasite relationship of *Taenia solium* cysticercosis // *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2016.- V. 207.- P. 61 – 67.
35. Ortega V.E., Meyers D.A., Bleecker E.R. Asthma pharmacogenetics and the development of genetic profiles for personalized medicine // *Pharmgenomics Pers. Med.*, 2015.- V. 8.- P. 9 – 22.
36. Quaye I.K. Haptoglobin, inflammation and disease // *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.*, 2008.- V. 102.- P. 735 – 742.
37. Sadrzadeh S.M., Bozorgmehr J. Haptoglobin phenotypes in health and disorders // *Am J Clin Pathol.*, 2004.- V.121.- Suppl:P. 97 - 104.
38. Saeed S.A., Ahmad N., Ahmed S. Dual inhibition of cyclooxygenase and lipoxygenase by human haptoglobin: Its polymorphism and relation to hemoglobin binding // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007.- V. 353.- P. 915 – 920.

39. Schaer C.A., Deuel J.W., Schildknecht D. et al. Haptoglobin Preserves Vascular Nitric Oxide Signaling during Hemolysis // Am. Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2016.- V.193.- P. 1111 – 1122.
40. Shteinberg M., Rivlin J., Gur M. et al. Lack of Association Between Haptoglobin Phenotype and Cystic Fibrosis Outcomes // Lung, 2015.- V. 193.- P. 1017 - 1021.
41. Tseng C.F., Lin C.C., Huang H.Y. et al. Antioxidant role of human haptoglobin // Proteomics, 2004.- V. 4.- P. 2221 - 2228.
42. Viener H.L., Gorbatov R., Vardi M. et.al. Pharmacogenomic interaction between the Haptoglobin genotype and vitamin E on atherosclerotic plaque progression and stability // Atherosclerosis, 2015.- V. 239.- P. 232 – 239.
43. Vitalis Z., Altorjay I., Tornai I. et al. Phenotypic polymorphism of haptoglobin: A novel risk factor for the development of infection in liver cirrhosis // Human Immunology, 2011.- V. 72.- P. 348 – 354.
44. Wenzel S. Phenotypes and endotypes: emerging concepts on asthma heterogeneity. Global Atlas of Asthma. Ed. C.A.Akdis, I.Agache.- 2013.- P. 34 – 35.
45. Wobeto V.P., Zaccariotto T.R., Sonati M.F. Polymorphism of human haptoglobin and its clinical importance // Genet.Mol.Biol., 2008.- V.31.- P. 602 – 620.

**Сведения об авторе:**

Василевский Игорь Вениаминович, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии Белорусского государственного медицинского университета, академик Республиканского НО аллергологов и иммунологов, академик Белорусской академии экологической антропологии, автор свыше 660 научных публикаций.  
г.Минск, ул. Некрасова дом 27 кв. 153. Тел. Велком 29-689-09-10.  
E-mail: igor.vasilevski@mail.ru