

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

на правах рукописи

КУЛИКОВ ЕВГЕНИЙ СЕРГЕЕВИЧ

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ ТЯЖЕЛОЙ
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ**

14.01.25 – пульмонология

**Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

**Научный консультант: Огородова
Людмила Михайловна, доктор
медицинских наук, профессор, член-
корр. РАМН, заслуженный деятель
науки РФ**

ТОМСК-2014

Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Молекулярная и генетическая характеристика воспаления при тяжелой бронхиальной астме (обзор литературы).....	12
1.1 Бронхиальная астма: распространенность, определение.....	12
1.2 Механизмы формирования аллергического воспаления.....	14
1.3 Аспекты клинического течения БА.....	18
1.4 Классификация БА и контроль болезни.....	18
1.5 Распространенность неконтролируемой астмы в популяции.....	21
1.6 Тяжелая и терапевтически резистентная БА.....	22
1.7. Молекулярные паттерны тяжелой БА.....	27
1.8. Генетические паттерны тяжелой БА.....	41
Глава 2. Клинические группы и методы исследования.....	54
2.1 Протокол исследования.....	54
2.2 Методы исследования.....	63
Глава 3. Клиническая характеристика изучаемой популяции и оценка эффективности терапии.....	76
3.1 Исходная клиническая характеристика изучаемой популяции....	76
3.2 Динамика клинико-функциональных показателей и уровня контроля в течение периода наблюдения.....	84
3.3 Исходная клиническая характеристика терапевтически чувствительных и терапевтически резистентных пациентов.....	89
3.4. Динамика клинико-функциональных показателей и уровня контроля в течение периода наблюдения.....	96
Глава 4. Оценка дифференциальной экспрессии генов.....	104
4.1 Дифференциальная экспрессия генов на Визите 1.....	104
4.2 Дифференциальная экспрессия генов на Визите 3.....	115
4.3 Дифференциальная экспрессия генов на Визите 4.....	122
Глава 5. Анализ генных онтологий и KEGG путей.....	133

5.1 Сравнение тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА..	133
5.2 Сравнение тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмы.....	149
5.3 Сравнение тяжелой терапевтически резистентной и легкой БА....	155
Глава 6. Характеристика динамики генной экспрессии при тяжелой бронхиальной астме в течение лечебного периода.....	173
6.1 Функциональная характеристика генных кластеров.....	173
6.2 Характеристика изменений экспрессии кластеров в течение периода наблюдения.....	181
6.3. Оценка динамики генной экспрессии в течение лечебного периода.....	185
Глава 7. Обсуждение результатов.....	210
Заключение.....	229
Список сокращений и условных обозначений.....	231
Список литературы.....	234
Приложения.....	272
Приложение А. Сравнительный анализ уровня генной экспрессии. Полный перечень генов с дифференциальной экспрессией с уровнем статистической значимости $p < 0,01$ / $p < 0,05$ и любым значением FС...	272

Введение

Актуальность темы исследования

В течение последних лет достигнут значительный прогресс в лечении бронхиальной астмы (БА) – произошла переоценка целей лечения, теперь к ней относится достижение и поддержание контроля; разработаны и зарегистрированы к применению высокоэффективные и безопасные средства базисной противовоспалительной терапии; получили широкое распространение клинические рекомендации, регламентирующие ведение больных с БА [11, 12].

Несмотря на это, тяжелая форма БА остается нерешенной медико-социальной проблемой. Тяжелая астма составляет до 18% в общей структуре БА, и по данным многих исследований отмечается тенденция к росту ее распространенности [25, 26, 127, 85]. При этом расходы на лечение данной формы болезни достигают 80% общей стоимости астмы, составляя основную часть фармакоэкономического бремени болезни [32, 16]. Наряду с высокими показателями потребления ресурсов здравоохранения, тяжелая БА непосредственно связана с высоким риском неблагоприятных исходов и выраженным влиянием на качество жизни пациента.

В связи с высокой медико-социальной значимостью данная проблема привлекает внимание ученых во всем мире. Только за последние пять лет опубликованы около 700 различных научных работ, посвященных проблеме тяжелой БА.

Исходя из накопленных на данный момент знаний, наиболее вероятными механизмами формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности, являются дисбаланс цитокинового профиля, резистентность к глюкокортикоидам, ангиогенез и ремоделирование бронхов, модуляция иммунного ответа в направлении Th2-звена. Однако подавляющее большинство этих данных не укладывается в единую концепцию и, как следствие, не становятся объектом трансляционной медицины.

Степень разработанности

Проведенные и опубликованные на данный момент исследования разнородны по своим целям, задачам и методам, выполнены на неоднородных выборках пациентов с точки зрения степени тяжести и/или уровня контроля болезни субъектов, что не позволяет объединить результаты и сформировать полную теоретическую концепцию. В дополнение к этому, опубликовано достаточно ограниченное количество исследований, в которых в качестве субъектов выступали пациенты с тяжелой терапевтически резистентной БА или представители фенотипов тяжелой астмы. Также подавляющее большинство исследований относятся к одномоментным, что не позволяет определить динамику изменения молекулярных и генетических профилей в ответ на фармакотерапию астмы.

В этой связи проведение проспективного анализа полногеномной экспрессии генов в рамках интервенционного исследования при тяжелой БА, позволит минимизировать методологические ограничения и установить наиболее вероятные механизмы формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности.

Цель исследования

Установить молекулярные механизмы формирования тяжелой бронхиальной астмы и терапевтической резистентности путем проспективного анализа полногеномной экспрессии генов с сопоставлением клинико-функциональных параметров течения болезни на фоне терапии.

Задачи исследования

1. В рамках контролируемого клинического исследования установить распространенность терапевтической резистентности у больных тяжелой бронхиальной астмой и дать сравнительную оценку динамики клинико-функциональных показателей и уровня контроля болезни на фоне базисной

противовоспалительной терапии в группе тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной БА.

2. Оценить дифференциальную экспрессию генов исходно и в динамике на фоне терапии у больных легкой БА, тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной формами болезни.

3. Охарактеризовать транскрипционные различия с помощью анализа генных онтологий и KEGG путей у больных тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной БА.

4. Оценить динамику уровня экспрессии генов на фоне терапии у пациентов с тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмой.

5. Дать оценку фармакотерапевтическому режиму комбинированной терапии при тяжелой БА на основе анализа молекулярных механизмов формирования воспаления.

Научная новизна

Впервые в мире спланировано и проведено исследование полногеномной экспрессии генов в динамике у пациентов с тяжелой чувствительной к терапии и тяжелой терапевтически резистентной БА. Данное исследование выполнено в соответствии с методологическими принципами планирования проспективных интервенционных клинических исследований с использованием метода анализа глобальной экспрессии генов с помощью технологии микрочипов, которая в настоящее время является наиболее аналитически точным методом исследования в этой области.

Рецепторы кортикостероидов и бета2-агонистов в течение нескольких десятилетий являются практически единственными терапевтическими мишенями, которые применяются для лечения БА. Препараты данных групп входят в состав всех ступеней терапии, рекомендованных GINA [11, 12]. Однако до сих пор регистрируется значительная доля пациентов, которые характеризуются недостаточным ответом на терапию. В связи с чем, получение новых фундаментальных данных о механизмах формирования тяжелой БА и

терапевтической резистентности в рамках клинического исследования с использованием современных аналитически точных методов является актуальной научной задачей.

Оценка дифференциальной экспрессии генов позволила установить, что группы легкой, тяжелой терапевтически чувствительной и терапевтически резистентной БА характеризуются различными профилями экспрессии генов, что является отражением наличия отдельных механизмов персистенции воспаления.

Впервые в данной работе на основании оценки направленности изменения экспрессии генов, формирующих генные онтологии, а также кластерного анализа временной динамики генной экспрессии, определены механизмы формирования тяжелой БА. Для тяжелой терапевтически чувствительной БА такими молекулярными механизмами являются ослабление противовирусного иммунитета, снижение регуляции программируемой клеточной гибели на фоне активации нейтрофилов и активация натуральных киллеров. При этом, феномен терапевтической резистентности обусловлен наличием отдельных молекулярных механизмов, ассоциированных со снижением активности натуральных киллеров и вовлечением в патогенез суперантигена стафилококка.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что молекулярные механизмы формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности преимущественно лежат вне области действия основных современных терапевтических мишеней.

Впервые определен и ряд специфичных факторов, которые могут лежать в основе ограничения эффективности кортикостероидов и бета2-агонистов. Так, в случае тяжелых форм болезни зарегистрирована высокая активность метаболизма ксенобиотиков, что может быть причиной укорочения периода полувыведения лекарственных препаратов, обуславливая недостаточную эффективность терапии в стандартных терапевтических дозировках. Зарегистрированы признаки возможного нитрирования молекул длительно действующих бета2-агонистов (ДДБА) и ослабления терапевтической эффективности вследствие снижения

аффинитета молекулы к бета2-адренорецептору. Зарегистрированы признаки подавления секреции эндогенного эпинефрина.

Полученные данные позволят сфокусировать внимание специалистов трансляционной медицины на перспективных механизмах тяжелой БА и феномена терапевтической резистентности, определить новые таргетные терапевтические мишени, оптимизировать фармакотерапевтические подходы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Согласно современным представлениям, тяжелая БА является гетерогенным заболеванием, и на сегодняшний день накоплено достаточно данных для утверждения того, что в основе течения тяжелой астмы и феномена терапевтической резистентности лежат отдельные молекулярные механизмы формирования и персистенции воспаления. Выполненное исследование позволило установить, что группы легкой, тяжелой терапевтически чувствительной и терапевтически резистентной БА характеризуются различными профилями экспрессии генов, что является отражением наличия отдельных механизмов персистенции воспаления.

Идентифицированные молекулярные механизмы и генетические характеристики открывают возможности применения новых терапевтических мишеней и модификации существующих лекарственных средств.

Полученные данные представляют и высокую практическую ценность. Так, учитывая наличие признаков задержки реализации эффектов базисной противовоспалительной терапии, рекомендуемая продолжительность регулярной комбинированной терапии при тяжелой БА должна составлять не менее 24 недель. С учетом наличия молекулярных механизмов ограничения эффективности ингаляционных кортикостероидов (ИКС) и ДДБА при тяжелой БА, гипотетически, представляется целесообразным изменение кратности применения базисной противовоспалительной терапии (3-4 раза в сутки) при сохранении суточного объема дозы. Также у пациентов с феноменом терапевтической резистентности может быть оправданным определение суперантигена

стафилококка, как независимого фактора персистенции воспаления. Таким образом, данные, полученные в рамках исследования, позволят оптимизировать мероприятия мониторинга и фармакотерапевтические подходы тяжелых форм БА.

Результаты настоящей работы могут быть рекомендованы для включения в учебные программы дипломной и последипломной подготовки врачей-терапевтов и пульмонологов. Данные результаты могут стать основой разработки методических рекомендаций терапии тяжелой и терапевтически резистентной астмы.

Полученные результаты используются в работе отделения пульмонологии ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница» г. Томска. Материалы проведенных исследований используются в учебном процессе на кафедре госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России для студентов лечебного факультета, интернов и ординаторов, на кафедре факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России для студентов педиатрического факультета, на кафедре общей врачебной практики и поликлинической терапии ФПК и ППС ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России для врачей общей практики, на кафедре терапии факультета последипломного образования БУ ВО ХМАО-Югры "Ханты-Мансийская государственная медицинская академия" для интернов, ординаторов и врачей терапевтов на сертификационных циклах, на кафедре фармакологии, клинической фармакологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии БУ ВО ХМАО-Югры "Ханты-Мансийская государственная медицинская академия" для студентов лечебного факультета.

Методология и методы исследования

Согласно поставленным задачам выбраны методологически оправданные и высокоинформативные методы исследования, которые выполнялись на базе современных научно-исследовательских лабораторий ГБОУ ВПО СибГМУ

Минздрава России и Национального Института Сердца и Легкого (Лондон, Великобритания).

Исследование состояло из трех этапов. На первом этапе проведено проспективное, интервенционное, клиническое исследование в параллельных группах, в рамках которого описана клиническая характеристика изучаемых групп больных, выполнена сравнительная оценка динамики клинико-функциональных показателей и уровня контроля в течение периода наблюдения длительностью 6 месяцев.

Второй этап исследования проведен на базе Национального Института Сердца и Легкого (Лондон, Великобритания) в рамках совместного проекта с лабораторией молекулярной генетики и геномики при поддержке федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы». Этот этап заключался в проведении полногеномного анализа экспрессии генов в периферической крови у исследованных больных с использованием микрочипов Affymetrix.

В рамках третьего этапа выполнен сравнительный анализ профилей генной экспрессии в группах с разной степенью тяжести БА и в динамике на фоне лечения, проведена оценка вклада генетической составляющей в детерминацию развития тяжелой формы заболевания и терапевтической резистентности, оценена связь между экспрессией генов и эффективностью противоастматической терапии у пациентов с тяжелой БА.

Положения, выносимые на защиту

1. В группе тяжелой БА большая часть пациентов имеет неконтролируемое течение болезни и по окончании лечебного периода продолжительностью 6 месяцев соответствует критериям терапевтической резистентности. Тяжелая терапевтически чувствительная БА характеризуется вовлечением дополнительных молекулярных механизмов персистенции воспаления, ассоциированных с ослаблением противовирусного иммунитета, снижением

регуляции программируемой клеточной гибели на фоне активации нейтрофилов и натуральных киллеров.

2. Феномен терапевтической резистентности при тяжелой БА обусловлен наличием отдельных молекулярных механизмов, ассоциированных со снижением активности натуральных киллеров и вовлечением в патогенез суперантигена стафилококка.

3. Тяжелая терапевтически чувствительная и терапевтически резистентная БА ассоциированы с молекулярными механизмами ограничения эффективности ИКС и ДДБА, такими как повышение активности метаболизма ксенобиотиков и сульфатирования, нитрирование молекул ДДБА и подавление секреции эндогенного эпинефрина.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается выполнением работы в соответствии с протоколом клинического исследования, достаточным объемом клинического материала для полногеномных исследований, использованием современных и высокотехнологичных методов транскриптомных исследований, а также адекватных и современных методов анализа и статистической обработки результатов.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на итоговой конференции по результатам выполнения мероприятий за 2009 год в рамках приоритетного направления «Живые системы» ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» (Москва, 2009), XVII Национальном Конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2010), Конгрессе Европейского респираторного общества (Амстердам, 2011), Конгрессе Европейского респираторного общества (Вена, 2012), научно-практической конференции с международным участием «Кардиоваскулярная профилактика и реабилитация 2013» (Москва, 2013), V Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (Благовещенск, 2013), Конгрессе Европейского респираторного общества (Барселона, 2013).

Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы», мероприятие 1.2 – II очередь (ГК № 02.512.11.2281).

Личное участие автора

Автор принимал непосредственное участие в проведении научно-исследовательской работы на всех этапах от разработки идеи исследования и проектирования протокола до статистического анализа, обсуждения и публикации результатов исследования.

Объем и структура диссертации

Работа изложена на 337 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, глав собственных наблюдений (3-6 главы), обсуждения, заключения, списка литературы, приложения. Работа иллюстрирована 16 рисунками и 54 таблицами, а также включает приложение, содержащее 8 таблицам. Список источников цитируемой литературы включает в себя 358 работ, из которых 34 отечественных и 324 зарубежных авторов.

Глава 1. Молекулярная и генетическая характеристика воспаления при тяжелой бронхиальной астме (обзор литературы)

1.1 Бронхиальная астма: распространенность, определение

Несмотря на значительный прогресс современной клинической фармакологии и широкую доступность высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов, бронхиальная астма относится к наиболее распространенным заболеваниям респираторной системы среди взрослого населения с высокой социальной значимостью и выраженным влиянием на качество жизни пациента [48, 11, 25, 6].

По данным издания *Global Burden of Asthma* (Глобальное бремя астмы) в настоящее время в мире более 300 миллионов человек страдает данным заболеванием, что составляет от 5 до 15% населения в разных странах [324]. По данным исследований, использующих стандартизованные методы оценки, распространенность БА в разных странах мира колеблется от 1 до 18% [324, 269, 268, 283, 267].

По данным эпидемиологических исследований в последние десятилетия в мире регистрируется рост распространенности БА [344]. Данную тенденцию наглядно продемонстрировали результаты исследования ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood* – Международное исследование астмы и аллергии у детей), по данным которого, в период с 1995 по 2002 годы прирост распространенности заболевания составил 42,1% [283]. Наряду с этим, регистрируется тенденция к росту аналогичного показателя в детской популяции. В период с 1980 по 1995 годы прирост пациентов с диагностированным заболеванием составил порядка 55% [102].

На территории Российской Федерации (РФ) заболевание регистрируется в 3,7-5% случаев [324, 5, 26]. Необходимо отметить, что Россия относится к странам с достаточно низкой распространенностью БА, если учитывать состояние проблемы в целом.

Социальная значимость БА обусловлена не только высокой распространенностью болезни, но высокими затратами системы здравоохранения, высоким риском жизнеугрожающих состояний, инвалидизацией. Так, затраты системы здравоохранения на терапию БА составляют более 60 миллиардов долларов в год и превышают суммарное финансовое бремя для ВИЧ и туберкулеза [324, 32]. Количество лет жизни, скорректированных по нетрудоспособности (DALY - Disability-adjusted life year) и «потерянных» в связи с астмой в настоящее время оценивается около 15 миллионов в год, что составляет 1% от всех потерь DALY, обусловленных болезнями, что сопоставимо с бременем таких болезней как сахарный диабет, цирроз печени и шизофрения [234, 233]. По количеству DALY БА занимает в структуре всех нозологий 25-ое место, что отражает высокую распространенность и значимость данной патологии как для общества в целом, так и для каждого пациента в отдельности [234, 233].

Статистика смертности вследствие астмы достаточно ограничена и доступна в небольшом количестве стран и недостаточно представлена в различных популяциях. Однако в целом, показатель смертности остается стабильным. Так, на две тысячи пациентов с БА в среднем регистрируется один смертельный исход [26, 70].

На территории РФ показатель смертности от астмы в общей популяции составляет приблизительно 0,8 на 100 тыс. населения, что является средним значением при сопоставлении с аналогичным показателем других стран. Но при анализе смертности из-за астмы в популяции больных БА данный показатель достигает 28,6 случаев на 100 тыс. пациентов, страдающих астмой, по данному показателю Россия занимает второе место, уступая только Китаю [324]. Вероятно, сложившаяся ситуация отчасти обусловлена социально-экономическими условиями. Так, по официальным данным, необходимые лекарственные препараты для терапии астмы доступны только для 50-80% пациентов, а уровень знаний врачей первичного звена здравоохранения относительно современных технологий лечения астмы в некоторых случаях можно расценить как недостаточный [324, 1].

Необходимо также отметить, что, по мнению экспертов GINA, картина глобальной распространенности астмы не может быть объяснена существующими на сегодняшний день данными о патогенезе заболевания и его причинах. Поэтому определение патогенетических факторов, способствующих запуску и персистенции воспаления, в настоящее время является приоритетной областью изучения [11, 1].

1.1.1 Определение БА

Бронхиальная астма – это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, важную роль в развитии которого играют многие клетки и клеточные элементы. Хроническое воспаление обуславливает развитие бронхиальной гиперреактивности (БГР) дыхательных путей, которая приводит к повторяющимся эпизодам свистящих хрипов, одышки, чувства заложенности в груди и кашля, особенно по ночам или ранним утром. Данные эпизоды обычно связаны с распространенной, но изменяющейся по своей выраженности обструкцией дыхательных путей в легких, которая часто бывает обратимой либо спонтанно, либо под влиянием лечения [11]. Необходимо также отметить, что БА относится к группе мультифакториальных заболеваний, возникающих как результат взаимодействия множества генетических (атопия) и средовых (аллергены, вирусы, поллютанты) факторов [11, 127].

1.2 Механизмы формирования аллергического воспаления

1.2.1 Факторы, влияющие на развитие и проявления БА

Факторы риска БА подразделяются на внутренние (обуславливающие развитие заболевания) и внешние (провоцирующие появление симптомов). К внутренним, в первую очередь, относятся генетические факторы, ожирение и пол [11].

Бронхиальная астма является мультифакториальным заболеванием, развитие которого определяется сложным взаимодействием генетической составляющей и

факторов внешней среды [162, 170]. Генетическая составляющая в патогенезе БА в настоящее время считается доказанной и активно изучается в рамках доказательных исследований. Так, генетико-эпидемиологическое исследование продемонстрировало повышение риска заболеваемости БА более, чем 2,5-6,7 раз, в зависимости от того, страдают ли БА один или оба родителя [318]. Наследственная отягощенность рассматривается как специфичный, но не высокочувствительный критерий прогнозирования риска развития болезни [3, 10]. По данным современных исследований к генетически-опосредованным составляющим БА относятся атопия и БГР [11].

Также к внутренним факторам относят наличие ожирения и принадлежность к полу. В настоящее время на основании данных эпидемиологических исследований регистрируется параллельное увеличение распространенности ожирения и БА среди населения развитых стран. В рамках данных исследований установлено, что распространенность БА достоверно выше среди девочек с ожирением, в сравнении с девочками, имеющими нормальный вес [93].

Широкомасштабное популяционное исследование среди подростков (4010 пациентов в возрасте 13 и 14 лет) продемонстрировало положительную корреляцию индекса массы тела (ИМТ) с распространенностью БА [242]. Аналогичная закономерность была зарегистрирована и среди взрослого населения [21, 243]. В крупном исследовании (86144 пациента в возрасте от 20 до 64 лет) коэффициент вероятности ожирения, ассоциированного с астмой, составил 1,85 (OR- Odds ratio 1,85; 95%CI - Confidence Interval 1,65-2,07) для женщин и 1,21 (OR 1,21; 95%CI 1,05-1,40) для мужчин [97]. Положительная корреляция ожирения и распространенности БА зарегистрирована у женщин без аллергии в анамнезе (OR 2,53; 95%CI 2,11-3,04), в сравнении с женщинами с указанием на аллергию (OR 1,57; 95%CI 1,36-1,82) [97].

Рассматриваются несколько механизмов взаимосвязи ожирения и БА - влияние ожирения на функцию внешнего дыхания (ФВД), влияние на БГР, увеличение синтеза провоспалительных медиаторов (С-реактивного белка,

фактора некроза опухолей (ФНО- α), интерлейкин-6 (ИЛ-6)) и угнетение синтеза противовоспалительных факторов [63, 80, 126, 291, 296].

Внешние факторы риска БА разделяются на факторы, предрасполагающие к развитию болезни, и факторы, провоцирующие обострения [11]. Однако существуют факторы, которые относятся к обеим категориям, например - профессиональные сенсibilизаторы и другие.

Внутренние факторы включают генетическую предрасположенность к развитию БА, а внешние модифицируют риск развития. Наличие двух составляющих является обязательным для развития болезни [11].

1.2.2 Атопическое воспаление

В настоящее время атопическое воспаление дыхательных путей рассматривается как ключевой момент патогенеза БА. В «воспалительном каскаде» принимает участие широкий спектр клеточных элементов, провоспалительных медиаторов и белковых молекул [11, 35, 337].

Важная роль в развитии и поддержании аллергического воспаления принадлежит IgE. Индукция иммунного ответа начинается с взаимодействия антиген-представляющих клеток с аллергеном, что стимулирует миграцию дендритных клеток в региональные лимфоузлы с последующим представлением антигена Т- и В-лимфоцитам [286, 88]. Взаимодействие Т- и В-клеток приводит к переключению В-лимфоцитов на синтез IgE. Эффекты IgE реализуются через связь с высокоаффинным рецептором (Fc ϵ RI) [202]. Также описан низкоаффинный Fc ϵ RII-рецептор, взаимодействие с которым приводит к активации эффекторных клеток воспалительного ответа [202]. Сигнальный каскад активирует клетки и приводит к дегрануляции и высвобождению биологически активных веществ, участвующих в реакциях гиперчувствительности немедленного типа [11, 111].

Одним из основных звеньев патогенеза атопического воспаления при БА является лимфоцитарный дисбаланс (Th2/Th1) [42]. У пациентов с БА после ингаляции причинно-значимых аллергенов в слизистой бронхов регистрируются

лимфоциты с экспрессированными маркерами активации [284]. Т-хелперы I типа (Th1) продуцируют ИЛ-2 и интерферон- γ (ИФН- γ), фактор некроза опухоли β (ФНО- β), необходимые для реализации клеточного иммунитета. Т-хелперы II типа (Th2) являются источником провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-4, 5, 6, 9, 13) [287, 113, 230]. Эффекты ИЛ реализуются через рецепторы на поверхности клеток-мишеней. Также описаны механизмы взаимного подавления, т.е. цитокины Th1 профиля подавляют продукцию Th2 цитокинов и наоборот.

Применительно к БА аллергическое воспаление дыхательных путей ассоциировано с преобладанием Th2-опосредованных механизмов и подавлением Th1 цитокинового профиля [72]. Так, в образцах бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) пациентов с БА выявлено значительно большее количество клеток, содержащих мРНК ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) по сравнению с образцами здоровых обследованных [284, 79].

Одной из ключевых клеток воспаления при астме являются эозинофилы [197, 299]. Это подтверждается тем, что при обострении заболевания выявляются признаки активации эозинофилов и повышенной секреции ими медиаторов, среди которых выделяют высокотоксичные основные белки, такие как главный основной протеин (major basic protein - МВР) и эозинофильный катионный протеин (eosinophil cationic protein - ЕСР), с которыми ассоциирован феномен гиперреактивности бронхиального дерева [35, 125]. Активированные эозинофилы способны вызывать сокращение гладкой мускулатуры бронхов, увеличивать проницаемость капилляров, инициировать повреждение эпителия дыхательных путей, вызывать цилиарную дисфункцию и слущивание клеток [35]. Медиаторы (гистамин, лейкотриены, простагландины, ферменты), цитокины (например, ИЛ-4, -5, -13, -9) и хемокины, секретируемые резидентными клетками и клетками, участвующими в воспалении, создают в тканях широкую сеть аутокринной, паракринной и эндокринной регуляции воспалительного процесса при астме [244, 247, 165].

1.3 Аспекты клинического течения БА

Для БА характерны следующие клинические симптомы: эпизоды одышки, кашель, свистящие хрипы, заложенность в грудной клетке. При этом симптомы имеют ряд особенностей: вариабельность, ответ на триггер или физическую нагрузку, выраженность в ночное время и уменьшение на фоне лечения.

Персистирующее воспаление является основой клинических проявлений БА и сопровождается гиперреактивностью бронхов и бронхиальной обструкцией, которые являются двумя основными факторами, лежащими в основе нарушения легочной функции.

Характерной и постоянной чертой БА является воспаление дыхательных путей, ассоциированное с клиническими проявлениями заболевания, их интенсивностью и тяжестью [11, 113, 91, 251, 329].

Основным клиническим признаком БА является эпизодически возникающая бронхиальная обструкция, при которой развивается ограничение скорости воздушного потока на выдохе. При этом для астмы характерна обратимость обструкции, которая проявляется либо самостоятельно, либо под действием терапии бета2-агонистами короткого действия. В основе обструкции лежит сокращение гладкой мускулатуры бронхов, отек слизистой, увеличение секреции слизи и инфильтрация дыхательных путей клетками воспаления [115].

Гиперреактивность дыхательных путей представляет собой бронхоконстрикторную реакцию на различные раздражители и является комплексным физиологическим нарушением [75]. Среди механизмов формирования данного феномена ведущую роль играют повреждение эпителия, повышение сосудистой проницаемости, отек стенки бронхов, высвобождение медиаторов эффекторных клеток воспаления и нарушение функции вегетативной нервной системы [11].

1.4 Классификация БА и контроль болезни

Современная классификация БА по степени тяжести основана на выраженности клинических симптомов и степени снижения показателей ФВД

(GINA 2010) [11]. В соответствии с данной классификацией выделяют следующие формы заболевания:

- легкая интермиттирующая БА (симптомы реже 1 раза в неделю, кратковременные обострения, ночные симптомы не чаще 2х раз в месяц, ОФВ1 или пиковая скорость выдоха (ПСВ) $\geq 80\%$ от должных значений, вариабельность показателей ПСВ или ОФВ1 $< 20\%$);
- легкая персистирующая БА (симптомы чаще 1 раза в неделю, но реже 1 раза в день, обострения могут влиять на физическую активность и сон, ночные симптомы чаще 2х раз в месяц, ОФВ1 или ПСВ $\geq 80\%$ от должных значений, вариабельность показателей ПСВ или ОФВ1 20-30%);
- персистирующая БА средней степени тяжести (ежедневные симптомы, обострения могут влиять на физическую активность и сон, ночные симптомы чаще 1 раза в неделю, ежедневный прием препаратов скорой помощи, ОФВ1 или ПСВ от 60 до 80% от должных значений, вариабельность показателей ПСВ или ОФВ1 $> 30\%$);
- тяжелая персистирующая БА (ежедневные симптомы, частые обострения, частые ночные симптомы, ограничение физической активности, ОФВ1 или ПСВ ≤ 60 от должных значений, вариабельность показателей ПСВ или ОФВ1 $> 30\%$).

Необходимо подчеркнуть, что данная классификация применяется исключительно при первичной диагностике и выборе стартовой терапии у «наивных» пациентов либо при отборе субъектов в клинических исследованиях.

Основным недостатком данной классификации является то, что она не отражает ответ на терапию и с ее помощью трудно предсказать объем терапии, в которой будет нуждаться пациент.

Для того, чтобы отразить в диагнозе БА параметры, характеризующие течение болезни с учетом ответа на терапию, которые имеют решающее значение при ведении пациента и определяют дальнейшую тактику лечения, экспертным комитетом GINA в 2006 году в классификацию было введено понятие контроля БА [12].

Под термином «контроль» понимают отсутствие проявлений болезни [12]. Впервые критерии контроля БА были сформулированы E. Bateman, который подразделял уровень контроля БА на «хороший» и «полный» в соответствии с наличием или отсутствием определенных критериев течения болезни [82]. Впервые данные критерии были применены для оценки эффективности терапии в исследовании GOAL (Gaining Optimal Asthma Control – Достижение оптимального контроля над астмой) [122, 303].

Ключевым результатом исследования GOAL стала новая концепция терапии, направленная на достижение полного контроля [122, 303]. Данное исследование впервые продемонстрировало, что полный контроль достижим и может поддерживаться продолжительное время [303]. Результаты исследования GOAL имели и важное практическое значение, т.к. позволили сформировать подход к критериям эффективности лечения БА через оценку контроля заболевания. В свою очередь изменение формулировки целей лечения с установкой на достижение полного контроля одновременно обеспечило значительное улучшение результатов лечения БА и внедрение данных подходов в клинические рекомендации.

Начиная с пересмотра рекомендательного документа GINA от 2006 года, вместо привычного разделения по тяжести, классификация астмы построена на степени контроля (контролируемая, частично контролируемая и неконтролируемая астма) – как отражение представлений о том, что степень выраженности клинических проявлений болезни зависит от ответа на терапию. При этом указывается, что со временем степень контроля может изменяться.

В данном документе также впервые подверглись пересмотру и цели лечения. Главной целью лечения стало достижение и поддержание контроля над болезнью. Также согласно рекомендациям лечение должно начинаться с оценки текущего контроля над астмой, а объем терапии регулярно переоцениваться (в среднем один раз в три месяца) до момента достижения контроля. Как подчеркивается в документе GINA 2006 важно также сохранять достигнутый контроль, для чего лечение должно быть регулярным и долговременным, а переоценка

(мониторирование) контроля – постоянным [12].

1.5 Распространенность неконтролируемой астмы в популяции

Широкомасштабные эпидемиологические исследования БА различной степени тяжести, проведенные на территории Европы, США, Азиатско-Тихоокеанском регионе в 1999-2002 годах, продемонстрировали низкий уровень контроля болезни по критериям GINA 2002, в среднем данный показатель не превышал 5% [102, 70, 69]. Результаты поздних исследований, проведенных на территории США, Канады, Швейцарии в 2008-2011 годах, также продемонстрировали распространенность полного контроля заболевания по критериям GINA 2006 только в пределах 20-30% случаев [305, 327].

Таким образом, несмотря на изменение целей терапии БА, появление новых эффективных и безопасных лекарственных средств в период между данными исследованиями, у значительной доли пациентов регистрируется неконтролируемое течение болезни на фоне текущей терапии. Каковы же причины низкого контроля над болезнью в популяции?

Одной из причин является неадекватная степени выраженности клинических проявлений противовоспалительная базисная терапия либо полное ее отсутствие. Число больных, использующих ИКС, не превышает в разных странах 30 % [355, 70, 69]. Также в целом в популяции регистрируется редкая оценка функции легких. Так, за последние 12 месяцев, данное обследование проведено не более чем в 35 % случаев, в то время как данная группа нуждается в регулярной оценке параметров ФВД [355]. Отмечается и несоответствие данных оценки контроля астмы самими пациентами и объективными параметрами оценки контроля. Так 44,7% пациентов оценивают течение болезни как контролируемое при распространенности полного контроля в данной группе 2,4% [69]. В связи с низким уровнем ожидания от лечения пациенты в 60% случаев характеризуют течение астмы как полностью или хорошо контролируемое, хотя отмечают, что астма ограничивает их повседневную активность, профессиональную деятельность, занятия спортом, сон. Данная картина является результатом

изначально ошибочных представлений о целях лечения, реально достижимой степени контроля над астмой, как со стороны врача, так и со стороны пациента [355]. К значимым причинам невозможности достижения контроля над болезнью также можно отнести низкую комплаентность пациента и наличие сопутствующей терапии [29, 44, 52, 164].

Врачи зачастую не в состоянии объективно оценить течение астмы и эффективность лечения. Исследователи Doerschug et al. опубликовали результаты тестирования врачей на знание клинических рекомендаций по БА, из которых следует, что число правильных ответов колеблется от 20 % у резидентов и до 60 % у специалистов, что, в целом, нельзя признать удовлетворительным [71]. Эти данные сопоставимы с результатами исследований, проведенных и на территории Томской области, которые продемонстрировали, что уровень знаний врачей первичного звена здравоохранения относительно современных технологий лечения астмы в некоторых случаях можно расценить как недостаточный [1].

Стоит отметить, что даже при назначении адекватной терапии и оценке уровня контроля валидным инструментом, доля неконтролируемой астмы в реальной клинической практике остается значительной. Это продемонстрировало многоцентровое проспективное наблюдательное исследование СТРЕЛА-АСТ [28, 34, 15]. По результатам данной работы на фоне регулярной комбинированной терапии к окончанию 12-ти недельного периода наблюдения критериев контроля не достигали около 30% пациентов [28, 34, 15]. С достаточной долей уверенности можно предполагать, что значительное количество этих пациентов страдают тяжелой БА.

1.6 Тяжелая и терапевтически резистентная БА

В последние десятилетия во всем мире отмечается тенденция к росту распространенности тяжелых форм болезни [25, 26, 127]. Тяжелая астма составляет 18% в общей структуре заболевания [85]. При этом расходы на лечение тяжелой формы болезни достигают порядка 80% общей стоимости астмы т.е. 80% всех ресурсов потребляет 18% пациентов с тяжелой БА [32, 16]. Согласно

последним исследованиям на территории США, затраты на одного пациента с тяжелой неконтролируемой астмой составляют более семи тысяч долларов в год, в сравнении с двумя тысячами долларов на пациента с частичным или полным контролем [123].

Наряду с высокими показателями потребления ресурсов здравоохранения, тяжелая БА ассоциирована с частыми жизнеугрожающими состояниями и высоким риском смерти, что позволяет отнести сложную БА к одной из наиболее актуальных проблем современной медицины.

1.6.1 Особенности клинического течения тяжелой астмы

Для оценки клинической характеристики тяжелой астмы в 2002-2003 гг. в России проведено национальное эпидемиологическое исследование БА тяжелого течения НАБАТ [17].

Согласно результатам данного исследования, клинически тяжелая астма характеризуется низкими показателями ФВД, практически ежедневными ночными пробуждениями из-за симптомов, частыми вызовами скорой медицинской помощи. И это, несмотря на то, что более 90% пациентов регулярно используют средства базисной терапии, а около 40% пациентов вынуждены прибегнуть к терапии системными кортикостероидами (СКС). В исследуемой популяции значительное количество пациентов имели сопутствующие заболевания, которые способны повлиять на клиническое течение астмы. Наиболее часто регистрировались аллергический ринит, хронический синусит и гастроэзофагеальный рефлюкс [17, 2].

Также установлено, что большинство пациентов (63%), включенных в исследование НАБАТ, имело неконтролируемое течение заболевания, отличающееся большей частотой госпитализаций, курсов приема СКС и обращений к врачу из-за ухудшения течения астмы. По данным исследования, в качестве факторов риска неконтролируемого течения астмы, могут рассматриваться поливалентная сенсibilизация, сопутствующий синусит, аллергический ринит, прием нестероидных противовоспалительных препаратов

[17, 2]. Данное масштабное исследование позволило не только охарактеризовать особенности клинического течения тяжелой астмы на территории России, но и дать реальную оценку фармакотерапевтическим подходам в ведении данных пациентов.

Данные исследования НАБАТ согласуются с результатами Европейского многоцентрового исследования клинического фенотипа тяжелой БА (ENFUMOSA, European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma) [323].

1.6.2 Определение и фенотипы тяжелой БА

Основным предположением традиционной классификации GINA2010, согласно степеням тяжести, является то, что все пациенты, принадлежащие определенной степени тяжести, имеют сходные характеристики болезни и риск будущих обострений астмы, которые должны управляться сходными терапевтическими режимами. Однако данный классификационный подход не учитывает подтипов внутри данных степеней тяжести [349, 292].

Согласно современным представлениям, тяжелая БА является гетерогенным заболеванием, в структуре которого выделяют несколько клинических вариантов течения (фенотипов), существенно различающихся по клинической характеристике [76, 90, 100, 118, 166].

Первую успешную попытку классифицировать тяжелую БА на фенотипы предпринял член экспертной группы Европейского респираторного общества по сложной астме S. Holgate в монографии «Difficult asthma» в 1999 году [117]. Необходимо отметить, что данная клиническая группировка остается актуальной на сегодняшний день и предполагает следующее распределение фенотипов тяжелой астмы:

1. Терапевтически резистентная астма без определенного фенотипа. Клиническая характеристика: симптомы сохраняются, несмотря на применение высоких доз ИКС длительное время (беклометазона дипропионат более 2000 мкг в сутки или любой другой ИКС в эквивалентной дозе не менее 5 мес.).

2. Фатальная астма. Клиническая характеристика: фатальные и близкие к фатальным эпизоды астмы, сопровождающиеся гиперкапнией и требующие искусственной вентиляции легких. Пациенты этой группы могут испытывать повторные жизнеугрожающие приступы, несмотря на адекватную терапию ИКС, или повторные курсы СКС.

3. Хаотичная нестабильная астма (brittle). Клиническая характеристика: внезапные острые приступы, развивающиеся в течение минут-часов без объективной причины и на фоне практически нормальной функции легких или хорошо контролируемой астмы. Пациенты этой группы также могут иметь широко варьирующую бронхиальную обструкцию, со значительными колебаниями ПСВ в течение дня. К этой же группе относят пациентов с ночной и утренней астмой.

4. Хроническая сложная астма с постоянной бронхиальной обструкцией. Клиническая характеристика: наблюдаются относительно редкие острые тяжелые обострения. Наряду с этим отмечается значительное влияние на ежедневное качество жизни, несмотря на активное лечение.

По данным исследования НАБАТ терапевтически резистентная астма без определенного фенотипа и хроническая тяжелая астма с постоянной обструкцией являются наиболее распространенными фенотипами (по 23% в структуре тяжелой БА), доля brittle – фенотипа составляет 15% [17, 2]. Наименее распространенным фенотипом является фатальная астма (2,1%). По-видимому, это связано с высокой частотой жизнеугрожающих состояний и высокой смертностью в данной группе больных.

В 2000 году Американское торакальное общество (American Thoracic Society) впервые опубликовало критерии терапевтически резистентной астмы [270] (Таблица 1).

Таблица 1

Диагностические критерии терапевтически резистентной астмы

Большие критерии:
1. Потребность в применении СКС > 50% времени

2. Необходимость использования высоких доз ИКС (≥ 1260 мкг/сутки беклометазона или эквивалентные дозы других ИКС)
Малые критерии:
1. Ежедневная потребность в длительно действующих бета2-агонистах (ДДБА), теофиллине, антилейкотриеновых препаратах
2. Ежедневные симптомы астмы, требующие применения короткодействующих бета2-агонистов (КДБА)
3. Сохраняющаяся бронхиальная обструкция (ОФВ1 < 80%, дневная вариабельность ПСВ > 20%)
4. ≥ 1 вызова скорой помощи за последний год
5. ≥ 3 курсов СКС за последний год
6. Быстрое обострение астмы при уменьшении на $\leq 25\%$ дозы ИКС или СКС
7. Жизнеугрожающие события, связанные с астмой в прошлом

Согласно данной классификации, для постановки диагноза терапевтически резистентной БА (ТРБА) достаточно одного большого критерия в сочетании с двумя малыми.

Но, несмотря на существование достаточно четко сформулированных клинических критериев отдельных фенотипов, данные знания не позволяют определить фенотип-специфичный подход к терапии болезни.

При использовании данных клинических критериев знание врача о наличии у пациента того или иного фенотипа определяет, в некоторой степени, лишь прогноз, риски будущих обострений и необходимость коррекции плана мониторинга течения болезни. Однако предложенные клинические группировки фенотипов БА не позволяют скорректировать фармакотерапевтический подход в связи с отсутствием знаний о патофизиологических механизмах, лежащих в основе формирования фенотипов тяжелой астмы [83]. На сегодняшний день накоплено достаточно данных для утверждения того, что в основе течения тяжелой астмы лежат особенности формирования и персистенции воспаления, но доминирующих механизмов пока не определено.

Публикация монографии «Difficult asthma» в 1999 году акцентировала внимание научной общественности на проблеме тяжелой астмы, в целом, и на

необходимости более точной патофизиологической характеристики фенотипов болезни, в частности.

Попытки группировки тяжелой БА по клиническим признакам не прекращались. Так, в 2006 г. Sally E. Wenzel в журнале *Lancet* опубликовала обзорное исследование, в котором проанализированы все статьи по астме в рецензируемых журналах за последние 20 лет, содержащие определенные ключевые слова. В данной работе определены 13 фенотипов астмы, которые классифицированы в три категории: клиничко-физиологические фенотипы; фенотипы, связанные с воздействием триггеров и воспалительные фенотипы. Однако, анализ полученных данных показал, что каждый конкретный пациент имел паттерны нескольких фенотипов, принадлежащих сразу к нескольким категориям, что не позволяло четко разделить фенотипы и использовать данную классификацию в практике [350]. В 2010 году проведен неконтролируемый иерархический кластерный анализ данных 726 пациентов из базы данных *Severe Asthma Research Program* (Программа исследования тяжелой астмы). Пациенты, участвующие в данной программе, имели детализированную фенотипическую характеристику [174]. В результате данного анализа выявлено 5 групп (фенотипов). Однако, и в данном исследовании, выполненном на высоком доказательном уровне, все кластеры включали пациентов, которые соответствовали определению терапевтически резистентной астмы по критериям ATS, что доказывает клиническую гетерогенность тяжелой астмы и необходимость новых подходов к идентификации фенотипов тяжелой астмы, используя молекулярные или генетические паттерны [92].

1.7. Молекулярные паттерны тяжелой БА

В последнее время в литературе широко обсуждается мнение о том, что в основе тяжелой БА лежат патофизиологические механизмы, отличные от легкой и среднетяжелой форм болезни. Данные механизмы и являются основой формирования терапевтической резистентности, в связи с чем, отсутствует возможность достижения контроля заболевания на фоне применения адекватной

базисной противовоспалительной терапии [298, 228]. Опубликованы результаты десятков исследований, посвященных идентификации биомаркеров, которые могли бы быть использованы как в диагностических целях, так и стать новыми таргетными мишенями терапии БА [298, 228]. Но количество таких работ, выполненных в группе ТРБА, достаточно ограничено, и, как правило, каждое отдельное исследование характеризует только один биомаркер, не оценивая изменения и дисбаланс в молекулярных воспалительных каскадах в целом при данной форме болезни.

По данным современных исследований, наиболее вероятные причинные факторы и молекулы, лежащие в основе формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности, можно условно разделить на следующие группы: дисбаланс цитокинового профиля, феномен резистентности к глюкокортикоидам, ангиогенез и ремоделирование бронхов, детерминация иммунного ответа в направлении Th2-звена.

1.7.1. Экспрессия цитокинового профиля

У терапевтически резистентных пациентов, находящихся на терапии высокими дозами СКС, в БАЛ зарегистрированы высокие уровни нейтрофилов, в то время как у пациентов, не получающих СКС преобладает, эозинофилия [337, 203]. Наряду с повышенным уровнем эозинофилов в индуцированной мокроте, регистрируется высокий уровень нейтрофилов и ИЛ-8 [337, 181]. Необходимо также отметить, что у тяжелых пациентов с частыми обострениями регистрируются достоверно более высокие уровни проэозинофильных цитокинов, в сравнении с пациентами, имеющими фиксированную бронхиальную обструкцию [113]. В период тяжелых обострений, фатальных атак преобладает нейтрофильное воспаление.

В исследовании Селивановой П.А. (2008 г.) показано, что в БАЛ пациентов с «brittle» фенотипом регистрируется низкий общий цитоз за счет более низкого содержания лимфоцитов, эозинофилов и эпителиальных клеток, по сравнению со среднетяжелой астмой, а в БАЛ больных с фенотипом «астма с фиксированной

обструкцией» было зарегистрировано преобладание нейтрофилов [23]. Таким образом, имеются различные паттерны воспаления при астме с фиксированной бронхиальной обструкцией и хрупкой (brittle) астмой.

Повышенные уровни провоспалительных цитокинов, потенциально способные активировать каскад воспалительных процессов, могут объяснить тяжесть клинического течения заболевания. Так, у пациентов с тяжелой астмой регистрируются более высокие уровни ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-11, TGF- β , эотаксина [337, 113]. К интерлейкинам с наиболее выраженным провоспалительным эффектом можно отнести ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13. Адекватная противовоспалительная терапия ассоциирована со снижением уровня провоспалительных цитокинов, медиаторов и эффекторных клеток, что может подтверждать корреляцию повышенного уровня цитокинов с тяжестью заболевания. Механизма, объясняющего увеличенный синтез провоспалительных медиаторов, на данный момент не найдено. С другой стороны, сниженная экспрессия противовоспалительных цитокинов также может играть роль в формировании тяжелой астмы.

Цитокины ИЛ-13 и ИЛ-4 опосредуют свои провоспалительные эффекты посредством взаимодействия с IL-13R α 1 и IL-4R α . Прямой эффект ИЛ-13 на эпителий бронхов приводит к повышению БГР и гиперпродукции слизи даже в отсутствие признаков воспаления [209]. Также экспрессируется IL-13R α 2, который функционально не способен к передаче сигнала, но при этом обладает высоким аффинитетом к ИЛ-13. По последним данным трансмембранная форма IL-13R α 2 может ослаблять действие ИЛ-13 и ИЛ-4 [56]. Таким образом, снижение экспрессии IL-13R α 2 может быть причиной персистенции воспаления у больных с тяжелой БА. Также ИЛ-13 является важным Th2 цитокином, участвующим в эозинофильном воспалении и способствующим переключению В-клеток на продукцию IgE.

В последнее время также широко обсуждается роль механизмов регуляции продолжительности жизни эозинофилов в формировании персистирующего воспаления при астме. В нормальных условиях эозинофилы элиминируются

путем апоптоза, т.е. генетически детерминированной гибели клеток. При БА количество апоптотически измененных эозинофилов прогрессивно уменьшается с нарастанием степени тяжести заболевания эти данные были продемонстрированы в исследованиях биоптатов бронхов больных БА [275]. Супрессия апоптоза сочетается с преобладанием некротического пути гибели клеток и высвобождением значительного количества провоспалительных цитокинов и медиаторов (вторичная воспалительная реакция) [20, 121, 135]. В работах, выполненных в СибГМУ Деевым И.А. и Никитиной Л.Ю, подтверждаются данные о снижении апоптотической гибели эозинофилов, наиболее выраженные у пациентов с тяжелой БА, а также выявлен ряд специфических механизмов нарушения апоптоза, особенно в группе больных с неконтролируемой астмой, связанный с дисбалансом анти- и проапоптотических факторов, что может лежать в основе формирования терапевтической резистентности [14, 210]. Доказанными являются и нарушения апоптотической гибели нейтрофилов при тяжелой БА [248, 338, 46].

1.7.2. Формирование резистентности к глюкокортикоидам

В основе терапевтической эффективности глюкокортикоидов в лечении астмы лежит способность данной группы препаратов блокировать экспрессию провоспалительных цитокинов через подавление активности NF-κB [107, 353]. Показано, что у гормонозависимых пациентов экспрессия NF-κB достоверно выше, чем у пациентов, получающих терапию ИКС ($p < 0,001$), наивных пациентов ($p < 0,04$) и группы контроля ($p < 0,01$) [346].

Понятие терапевтической резистентности неразрывно связано с чувствительностью к глюкокортикостероидам. Кортикостероидная резистентность определяется как отсутствие прироста ОФВ₁ или ПСВ более, чем на 15%, по отношению к исходным значениям, после назначения 30-40 мг преднизолона в течение 2 недель [117].

Большая часть кортикостероид-резистентных пациентов приобретает резистентность в процессе заболевания. В процессе длительной

иммуностимуляции, опосредованной цитокинами, развивается дефект связывания кортикостероидного рецептора в Т-клетках [89]. Лишь небольшая группа пациентов имеет первичную резистентность, которая характеризуется отсутствием побочных эффектов и изменений утреннего уровня кортизола при применении высоких доз кортикостероидов. Молекулярная основа данного типа заключается в снижении количества центров связывания внутри клетки [89].

Среди молекулярных механизмов формирования резистентности к глюкокортикоидам в настоящее время рассматривают: дефект связывания с лигандом, нарушение ядерной транслокации, альтернативный сплайсинг рецепторов [223].

Установлено, что резистентные к терапии пациенты не имеют нарушений в секреции эндогенного кортизола и в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе [211]. По данным опубликованных исследований до сих пор не было выявлено мутаций глюкокортикоидного рецептора (ГКР) у резистентных пациентов [95]. Описано два типа дефектов связывания с лигандом [120]. Наиболее распространенным является дефект первого типа – снижение аффинитета ГКР, данный дефект является специфичным для Т-клеток. Менее распространенным дефектом является сниженная плотность ГКР при нормальной степени аффинитета – данный эффект является специфичным для момнонуклеаров [223].

Механизмы нарушения ядерной транслокации ГКР точно не установлены, но предполагается, что это может быть связано с нарушенным фосфорилированием ГКР системой MAPK и частичным взаимодействием с транспортным протеином – импортином [42, 285]. Анализ связывающей способности не выявил нарушений аффинитета в комплексе лиганд-рецептор, но показал сниженное количество рецепторов, способных к связыванию с ДНК у резистентных пациентов. Также у части резистентных пациентов наблюдается нормальная ядерная транслокация ГКР, но воздействие дексаметазона не приводит к достаточному стимулированию ацетиляции H4-гистона [77]. Таким образом, кортикостероиды не способны

активировать гены, отвечающие за противовоспалительный эффект и не могут подавить экспрессию воспалительного каскада.

Причиной терапевтически резистентной астмы может быть и альтернативный сплайсинг ГКР, который приводит к генерации ГКР-β, который не только не способен образовывать с молекулой кортикостероида комплекс лиганд-рецептор, но и препятствует активации нативного ГКР [142]. Так, у пациентов с резистентностью в БАЛ регистрируются более высокие уровни ГКР-β, в сравнении с пациентами, чувствительными к терапии и группой контроля [126, 167]. Более того, высокий уровень экспрессии ГКР-β регистрируется и в Т-клетках дыхательных путей. Однако, исследования экспрессии ИЛ-8 и ГМ-КСФ в периферической крови у пациентов с ТРБА не показали ассоциации уровня данных цитокинов со снижением активности мРНК ГКР-α и увеличением экспрессии ГКР-β [142]. Анализ уровня экспрессии ГКР на поверхности моноцитов периферической крови не показал снижение плотности и нарушений аффинитета у пациентов с тяжелой астмой, в сравнении со среднетяжелыми и группой контроля [156]. Поэтому биологическая значимость данной изоформы в формировании терапевтической резистентности продолжает обсуждаться, так как данный рецептор экспрессируется в низких уровнях. По данным последних исследований NF-κB может увеличивать экспрессию ГКР-β, который не только не связывается, но и является эндогенным ингибитором альфа формы [167, 272].

Таким образом, отсутствие дисбаланса ГКР-α, ГКР-β в периферических мононуклеарах может свидетельствовать о нарушении внутриклеточного транскрипционного комплекса – дисфункции транскрипционных факторов NF-κB и AP-1, что, в свою очередь, может приводить к неспособности ГКР повышать/подавлять активность кортикостероид-зависимых генов. Увеличенная экспрессия и активация NF-κB в эпителии бронхов потенциально может подавлять противовоспалительный эффект глюкокортикоидов в условиях ограниченного количества ГКР, тем самым, являясь потенциальным механизмом формирования резистентности.

1.7.3. Выраженное ремоделирование бронхов и ангиогенез

Важность ремоделирования бронхиальной стенки, как компонента тяжелой астмы, доказана во многих исследованиях, показывающих ассоциацию процессов ремоделирования с клинической картиной заболевания и степенью бронхиальной обструкции [329].

Для тяжелой астмы характерны некоторые особенности ремоделирования стенки бронха по сравнению со среднетяжелой. Так при тяжелом течении заболевания наблюдается достоверно более выраженное утолщение базальной мембраны, гипертрофия эпителия и более интенсивный ангиогенез [329, 352, 351, 91, 251, 128]. При этом паттерн ремоделирования по данным некоторых авторов носит фенотип-специфичный характер. Так, в слизистой оболочке бронхов пациентов с ТРБА явления ремоделирования носят более выраженный характер (снижение объемной плотности и высоты покровного эпителия, сокращение количества реснитчатых и бокаловидных эпителиоцитов, снижение относительного объема желез, значительное увеличение толщины базальной мембраны и относительного объема соединительной ткани) в сравнении с пациентами средней степени тяжести [9]. В свою очередь, фенотип «астма с фиксированной обструкцией» отличается от «brittle» БА более выраженным утолщением базальной мембраны и снижением высоты эпителиального пласта [9].

Наблюдается и более выраженная гипертрофия гладкомышечных клеток, при этом в группе тяжелых пациентов регистрируется достоверно более развитый слой гладкомышечной ткани с характерным снижением расстояния между слоем эпителия и мышечным слоем [329, 251]. Гипертрофированные миоциты при тяжелой БА интенсивно экспрессируют ИЛ-8 и эотаксин, обладающие провоспалительным эффектом. Гиперплазия гладкомышечной ткани, истончение базальной мембраны являются причиной комплексного взаимодействия между мезенхимальными факторами роста и их рецепторами [96].

По последним данным, гипоксия приводит к активации синтеза сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и индуцированного гипоксией

транскрипционного фактор-1-альфа (HIF-1 α), которые активируют ангиогенез, что приводит к нарушению микроциркуляции и усилению интенсивности воздействия элементов воспалительного каскада [347].

Важную роль играет дисбаланс деградтивных энзимов – металлопротеиназы-9 (ММР-9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ TIMP-1. При тяжелой астме регистрируется повышение экспрессии ММР-9 и снижение экспрессии TIMP-1 [222]. Низкий коэффициент соотношения ММР-9/TIMP-1 наблюдается у больных с терапевтической резистентностью, как следствие того, что у данных пациентов процессы бронхиального фиброгенеза преобладают над воспалением [289].

Таким образом, ремоделирование бронха при тяжелой БА можно рассматривать не только как статический компонент, формирующий бронхиальную обструкцию, но и как компонент, участвующий в воспалительном каскаде, способствующий персистенции воспаления.

1.7.4. Модуляция иммунного ответа в направлении Th2

С позиции определения механизмов формирования терапевтической резистентности перспективным представляется изучение роли транскрипционных факторов, регулирующих воспаление. По современным представлениям транскрипционные факторы (ТФ) играют ключевую роль в детерминировании направления дифференцировки лимфоцитов и формирования Th1/ Th2 дисбаланса [213]. При этом, во многих случаях экспрессия данных воспалительных белков индуцируется через ТФ. Ключевыми ТФ, определяющими направление дифференцировки Th0-клеток, являются факторы GATA-3 и T-bet.

1.7.4.1 Транскрипционный фактор GATA-3

Фактор GATA-3 – первый клонированный (в 1991 году) T- специфичный ТФ. GATA-3 является ключевым регулятором дифференцировки CD4 T-клеток в Th2-клетки [279].

Влияние GATA-3 на направление дифференцировки Th0 клеток и уровень экспрессии Th2 цитокинов впервые было описано Siegel et al. в 1995 году [41]. У пациентов, страдающих астмой, регистрируется повышенная экспрессия GATA-3 в крови сравнении с группой контроля [309]. Определение уровня ТФ возможно и в индуцированной мокроте у пациентов с БА, при этом регистрируемые показатели сопоставимы с уровнем данных факторов в ткани легких [309]. Для оценки влияния GATA-3 на дифференцировку Th-клеток в 2004 году Skapenko проведено исследование, в котором приняли участие здоровые добровольцы, имеющие генетический дефект GATA-3 аллеля, но при этом не имели признаков иммунологической некомпетентности и не получали никакой сопутствующей терапии, потенциально способной повлиять на уровень иммунокомпетентных клеток [143]. Так, *in vivo* было установлено, что потеря одного функционального аллеля сопровождается не только достоверным снижением дифференцировки лимфоцитов в Th2 направлении, но и снижением эффекторных функций Th2 клеток [143]. При проведении анализа *in vitro* были получены сходные результаты. Подавление экспрессии GATA-3 специфичными ингибиторами также сопровождалось снижением дифференцировки Th2 клеток.

Также необходимо отметить, что интенсивная дифференцировка Th2 клеток приводит к увеличению экспрессии GATA-3, формируя тем самым замкнутый патогенетический каскад, вероятно, лежащий в основе персистенции atopического воспаления.

Согласно современным представлениям, фактор GATA-3 оказывает свое влияние на Th2 ответ посредством несколько механизмов: индукция продукции цитокинов Th2 ряда, селективная дифференцировка Th0 клеток в Th2 и подавление Th1 специфичных факторов [145].

Продукция Th2 цитокинов у человека, особенно ИЛ-5 и ИЛ-13 зависит от транскрипционной активности GATA-3 [331, 321, 192]. Повышение активности данного фактора сопровождается 10-кратным увеличением промоутерной активности ИЛ-5 и ИЛ-13, в то время как активность промоутера ИЛ-4 возрастает

лишь в два раза [173]. Увеличенная экспрессия GATA-3 также достоверно ассоциирована с повышением экспрессии ИЛ-5 и БГР [148].

Точные механизмы регуляции генов Th2 цитокинов GATA-3 до сих пор не установлены, но возможно, что в регуляции экспрессии имеет место не только прямая трансактивация промотора ИЛ-5, но и ремоделирование хроматина, облегчающего транскрипцию ИЛ-13 и ИЛ-4 [177, 183]. Некоторые цитокины, например ИЛ-4, способны индуцировать экспрессию GATA-3 через механизм изменения конформации хроматина [183].

Присутствие GATA-3 является необходимым для активации промотора ИЛ-5, но не ИЛ-4 [358, 146]. Также необходимо отметить, что сайтов связывания GATA-3 с генами Th2 цитокинов, кроме гена ИЛ-5, на данный момент не описано, хотя показано, что несколько регионов локусов ИЛ-4/ИЛ-13 потенциально способны к связыванию GATA-3 [146]. Базальная экспрессия фактора GATA-3 подавляет дифференцировку Th1 клеток [145]. Более того, результаты последних исследований свидетельствуют о том, что GATA-3 является ключевым фактором дифференцировки Th2 клеток, не только благодаря его возможности определять направление трансформации в сторону Th2, но и его способности блокировать продукцию цитокинов Th1 ряда через снижение активности STAT4 и снижение экспрессии IL-12R β 2 [316]. В качестве ключевых продуктов экспрессии GATA-3 можно рассматривать ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ 13. Фактор GATA-3 также влияет на функциональную активность натуральных киллеров (НК). Базальный уровень экспрессии данного ТФ необходим для выживания, активации и эффекторных функций НК [205]. Дефицит экспрессии GATA-3 сопровождается нарушениями дифференцировки НК. Также GATA-3 принимает участие в регуляции экспрессии гена рецептора *NKG2A*, ответственного за распознавание антигена HLA-E на таргет-клетках [144].

Кроме прямого влияния на дифференцировку Th2 клеток и экспрессию провоспалительных цитокинов Th2 ряда, GATA-3 оказывает влияние на такие компоненты клинического течения астмы, как БГР и ремоделирование стенки бронха.

Так, увеличенная экспрессия GATA-3 также достоверно ассоциирована с повышением степени БГР у человека [148]. Исследования на трансгенных мышах также показали положительную ассоциацию уровня экспрессии GATA-3 с БГР и инфильтрацией эозинофилами слизистой бронхов [195]. На модели астмы у мышей воздействие ингибитора экспрессии GATA-3 приводило к достоверному снижению уровня гиперреактивности дыхательных путей [335]. Повышенная экспрессия GATA-3 ассоциирована со степенью субэпителиального фиброза и отека слизистой, что может свидетельствовать в пользу влияния данного фактора на формирование и степень выраженности ремоделирования бронхов [332].

1.7.4.2 Транскрипционный фактор T-bet

Другим ключевым ТФ, определяющим дифференцировку Th0-клеток в Th1-клетки, является фактор T-bet, который относится к семейству ТФ T-box. Контакт специфического антигена с наивным Т-лимфоцитом индуцирует синтез ИЛ-12, что в свою очередь приводит к транслокации T-bet из цитоплазмы в ядро с последующим связыванием с промоторным регионом генов Th2 цитокинов и активацией экспрессии целевых цитокинов.

Экспрессия T-bet ограничена популяцией Th1 клеток, хотя исследования Szabo et al. (2000) показали, что трансдукция данного фактора в клетки Th2 ряда модулирует дифференцировку этих клеток в направлении Th1 фенотипа [38, 307]. Фактор T-bet также экспрессируется на антигенпрезентирующих клетках, включая дендритные, и является необходимым ТФ для оптимальной продукции ИФН- γ дендритными клетками и антигенспецифичной активации Th1 клеток *in vivo* [314]. Наряду с активацией клеток Th1 T-bet оказывает супрессорный эффект на линию клеток Th2 и экспрессию цитокинов Th2 ряда. При тяжелой БА регистрируются значительно сниженная экспрессия фактора T-bet в сравнении с группой контроля [114].

Кроме прямого влияния на дифференцировку Th1 клеток и экспрессию провоспалительных цитокинов Th1 ряда, T-bet действует на такие компоненты клинического течения астмы как БГР и ремоделирование стенки бронха.

На модели трансгенных животных, лишенных гена T-bet, регистрируется развитие БГР к метахолину, признаки перибронхиального эозинофильного воспаления, повышение отложения коллагена III под базальной мембраной эпителия бронхов, трансформация миофибробластов. При этом степень снижения экспрессии T-bet ассоциирована со степенью субэпителиального фиброза и отека слизистой, что характеризует влияние данного фактора на формирование и степень выраженности ремоделирования бронха [332]. Необходимо отметить, что в данной модели нейтрализация ИЛ-13 приводила к снижению уровня БГР и уменьшению выраженности признаков воспаления. Таким образом, ИЛ-13 является ключевым ИЛ, контролирующим ремоделирование бронхов [74]. Описано 24 варианта полиморфизма гена T-bet, при этом установлено, что наличие определенного генотипа ассоциировано с высокой степенью гиперреактивности к метахолину [315].

Такие факторы как ИФН- γ и ИЛ-2, продуцируемые Th1-клетками, занимают центральное место в клеточном иммунном ответе, так как ИФН- γ является мощным активатором фагоцитоза. Данные цитокины можно рассматривать в качестве ключевых продуктов экспрессии T-bet.

В последнее время в качестве потенциального фактора риска формирования тяжелой БА и триггера обострения у детей и взрослых активно обсуждается микоплазменная инфекция [235]. При этом установлено, что дефицит экспрессии T-bet способствует колонизации дыхательных путей инфекционными агентами, что может являться предиктором неконтролируемого течения заболевания и формирования терапевтической резистентности [313]. Колонизация инфекционным агентом становится возможной в связи с неэффективным иммунным ответом вследствие снижения продукции ИФН- γ и недостаточной активацией альвеолярных макрофагов. Также дефицит T-bet у мышей, лишенных гена данного фактора, приводит к большей подверженности инфицированием *Mycobacterium tuberculosis* [186].

1.7.4.3 Ядерный фактор - каппа В (NF-κB)

Фактором транскрипции, ассоциированным с активностью воспаления при БА, является NF-κB – один из главных ТФ, отвечающих за адаптивные реакции клеток. Фактор NF-κB влияет на различные гены, задействованные в иммунном, острофазовом и воспалительном ответах. К ним относятся гены *IL-1β*, *TNFα*, *IL-2*, *IL-6*, *IL-12*, *IL-8* и других хемокинов, индуцибельных ферментов, молекул адгезивных контактов, главного комплекса гистосовместимости, белков комплемента, факторов, контролирующих клеточный цикл, ингибиторов и активаторов апоптоза [99].

Во многих исследованиях показано участие NF-κB в патогенезе БА. Так, в бронхах пациентов, страдающих астмой, зарегистрирована повышенная активация NF-κB [252]. По данным исследований Hart L.A. et al. (1998) в эпителиальных клетках и макрофагах индуцированной мокроты пациентов с БА зарегистрировано повышение активности NF-κB в 2,5 раза по сравнению с группой контроля [40]. Иммуногистохимическое исследование показало, что в эпителиальных клетках пациентов с астмой NF-κB находится в активированном состоянии в 40% клеток, по сравнению с группой контроля ($45,1 \pm 7,2\%$ vs $20,7 \pm 3,9\%$; $n=9$; $p<0,01$) [40]. Также необходимо отметить, что наряду с повышенной активностью данного ТФ для пациентов с астмой характерно и резкое увеличение связывающей активности NF-κB [99]. Активация NF-κB при астме может быть причиной снижения противовирусного иммунитета и персистенции инфекции в дыхательных путях, что может рассматриваться как один из потенциальных независимых механизмов неконтролируемого течения астмы. Так, показано, что на модели трансгенных животных, лишенных гена NF-κB, экспрессия нескольких иммуномодуляторных и антивирусных генов запускалась под воздействием ИФН активнее [240, 246]. Таким образом, активация NF-κB подавляет антивирусную и иммуномодуляторную активность ИФН [240]. Также фактор NF-κB участвует в патогенезе астмы посредством увеличения экспрессии NF-κB-зависимых провоспалительных цитокинов, к которым относятся RANTES и эотаксин [159].

До сих пор остается неоднозначной роль ядерного фактора в регуляции механизмов апоптоза. С одной стороны, снижение активности NF-κB ассоциировано с увеличением апоптотического индекса, с другой стороны, активация NF-κB приводит к ингибированию p53-зависимого апоптоза через увеличение экспрессии онкогена *AP12/MALT1* [158]. В частности NF-κB вовлечен в активацию антиапоптотических генов и ингибирование апоптотических белков. В случаях, когда NF-κB активируется через «апоптотический стимул» (агенты, повреждающие ДНК, радиация), это приводит к транскрипции проапоптотических генов. Таким образом, NF-κB регулирует два гена с противоположными функциями. Механизмы данного явления пока остаются неизвестными. Исследования на модели астмы у животных показали, что подавление активности NF-κB триоксидом мышьяка приводит к активации апоптоза эозинофилов в дыхательных путях и, как следствие, к снижению БГР к метахолину. В других исследованиях на трансгенных животных не показано ассоциации NF-κB с БГР [57, 239]. Вклад полиморфизма гена NF-κB в формирование тяжелой астмы в настоящее время продолжает изучаться.

1.7.4.4 Toll-like рецепторы (TLR)

В последнее время в литературе появились данные о возможной роли TLR протеинов в патогенезе астмы [81]. Было показано, что TLR4 опосредуют свой эффект посредством модуляции иммунного ответа. Рецепторы TLR4 могут переключать иммунитет как на Th1 так и на Th2 ответ [214, 330]. При этом направление переключения зависит, как предполагается, от множества факторов (природы аллергена, дозы, времени экспозиции). На моделях животных показано, что низкие дозы липополисахаридов приводят к независимой активации TLR4 и переключению клеточного ответа по Th2 типу [214]. Высокие же дозы липополисахаридов поддерживают активацию Th1 звена и, следовательно, оказывают протективный эффект. Воздействие аллергена на дыхательные пути сопровождается секрецией ИЛ-10 и ИЛ-6 антигенпрезентирующими клетками. При этом ИЛ-6 приводит к переключению ответа по Th2 пути, но при

комплексном взаимодействии с TLR4 или TLR 9 происходит более выраженная активация воспалительного каскада медиаторов. Данный эффект нейтрализуется посредством секреции ИЛ-10, который предотвращает развитие реактивности дыхательных путей на воздействие аллергена. Таким образом, повышенный уровень экспрессии TLR на фоне дисбаланса цитокинов (ИЛ-6 и ИЛ-10) может являться одним из механизмов интенсивной персистенции воспаления при тяжелой астме.

Таким образом, ТФ являются ключевыми в формировании Th1\Th2 дисбаланса, лежащего в основе персистенции воспаления. Данные факторы оказывают влияние на степень ремоделирования бронха, выраженность БГР. Дисбаланс экспрессии данных факторов лежит в основе снижения иммунитета, способствующего колонизации дыхательных путей инфекционным агентом, что может быть патогенетической основой неконтролируемого течения астмы и формирования терапевтической резистентности.

1.8. Генетические паттерны тяжелой БА

В соответствии с современными представлениями, предрасположенность к БА определяется не одним главным локусом, а несколькими кодоминантными генами, эффекты которых модифицируются другими генами. По данным различных авторов предположительное количество таких генов может составлять около двух тысяч.

Наверное, БА является одной из самых активно изучаемых патологий с точки зрения оценки вклада генетической составляющей. К настоящему времени уже опубликованы результаты 21 метаанализа и 12 полногеномных ассоциативных исследований [345]. По данным этих исследований идентифицировано более 500 генов, имеющих ассоциацию с БА .

1.8.1 Гены, ассоциированные с БА

Гены наиболее важных в развитии астмы ИЛ (ИЛ-4, -5, -13) расположены тандемно в одном кластере на хромосоме 5q31-33. В нескольких исследованиях

установлено сцепление БА и ассоциированных признаков с этим локусом [260, 217, 130]. Роль цитокинов Th2-типа в развитии БА подтверждается в многочисленных исследованиях. В фармакологических исследованиях показано, что локальное действие вариантов ИЛ-4, ингибирующих связывание ИЛ-4 и ИЛ-13 с их рецептором, значительно снижает симптомы БА в ответ на ингаляционные аллергены.

Явления атопии ассоциированы с полиморфизмом генов рецепторов ИЛ-4. Установлено, что Leu50-вариант *IL4RA* ассоциирован с атопией, повышением уровня общего и специфического IgE к аллергенам домашней пыли [180]. Данный вариант рецептора примерно в 3 раза по сравнению с Val50-вариантом более значимо увеличивает активность ИЛ-4 за счет повышения активности субъединицы рецептора и практически в 2 раза повышает активацию генов ИЛ-4 и тяжелых цепей иммуноглобулинов.

Также значительную роль в развитии аллергического воспаления играет ИЛ-13. Полиморфизм гена *IL13* Arg130Gln ассоциирован с повышенной биологической активностью ИЛ-13 и повышенным уровнем IgE и атопическими заболеваниями [340, 152, 151, 193]. Промоторный полиморфизм -1122С/Т гена *IL13* обуславливает повышенную транскрипцию гена *IL13* Th2-поляризованными клетками [172, 59]. Важно отметить, что полиморфизмы Arg130Gln и -1122С/Т наследуются совместно, и индивиды, несущие оба аллеля, имеют повышенную экспрессию ИЛ-13.

В работах Фрейдина М.Б. и соавторов установлена существенная связь аллеля С-703 полиморфного варианта гена *IL5* с БА, неспецифической гиперреактивностью дыхательных путей и атопией [19, 24]. Молекулярный механизм полученной ассоциации может быть связан с усилением экспрессии гена *IL5* и, соответственно, с повышением уровня его белкового продукта, являющегося мощным активатором эозинофилов, которые в свою очередь провоцируют развитие воспаления, приводящего к обструкции и гиперреактивности дыхательных путей [27, 33, 178]. При этом степень

ассоциации полиморфизмов генов *IL5* и *IL5RA* связаны с БА ниже, чем для других генов Th2-пути [259, 179].

По современным представлениям atopическая конституция определяется полиморфизмами генов регуляторных цитокинов ИЛ-10 (*IL10*), TGF- β (*TGFB*) и аллелями антигенов HLA II (HLA-DR, -DQ,-DP) [191, 294, 334]. Также генетическими факторами, влияющими на поляризацию и дифференцировку Th-клеток в направлении Th2, являются полиморфизмы генов *GATA3*, *TBX21*, *IL4*, *IL4RA*, *STAT6*, *IL12B* [31, 24]. Исследование ассоциации полиморфизма гена рецептора к простагландину E2 (*PTGER*) позволило установить, что фитопростаны, ассоциированные с пыльцевыми аллергенами оказывают прямое влияние на дендритные клетки, снижая уровень экспрессии гена ИЛ-12, что, в свою очередь, благоприятствует поляризации Th2 [261].

Получены данные об ассоциации с БА, показателями ФВД, ремоделированием дыхательных путей и тяжестью заболевания для генов *TGFB1* (кодирует TGF- β 1), *LTC4S* (ген синтазы лейкотриена C4), *GSTM1* и *GSTP1* (глутатион-S-трансфераз), *TBXA2R* (ген рецептора тромбксана A2), *ALOX5* (ген арахидонат-5-липоксигеназы), *LTA* (ген лимфотоксина α), *TNC* (ген белка адгезии тенасцина C) и *NOS1* (ген синтазы оксида азота 1) [253, 258, 343, 157, 51, 66].

Вероятно, самым изученным геном, ассоциированным с БА, является ген *ADRB2*, кодирующий бета2-адренорецептор. Изменение функциональной активности рецептора зафиксировано как на моделях животных, так и у пациентов с тяжелой БА [78]. Ген *ADRB2* расположен на хромосоме 5q31 вблизи кластера генов ИЛ. Продемонстрировано, что экспрессия гена *ADRB2* значительно повышена у пациентов с тяжелой БА по сравнению с группой среднетяжелых больных [23].

Идентифицирован ряд полиморфизмов в кодирующей части гена *ADRB2*, приводящих к аминокислотным заменам белковой последовательности [282]. Большинство исследований сосредоточены на двух таких вариантах: Arg16Gly и Gln27Glu. Установлено, что аллель Gly16 ассоциирован с ночной БА и БГР, а

Glu27-форма рецептора связана с пониженной чувствительностью дыхательных путей к метахолину у больных БА [150, 131].

Недавно продемонстрирована и ассоциация генов NO-синтаз с тяжестью течения БА. При тяжелой форме болезни зарегистрирована значимо низкая экспрессия *NOS1* и значимо высокая экспрессия *NOS2*. При этом, на фоне терапии ИКС происходит снижение только *NOS2*, что свидетельствует о вкладе именно данного фермента в воспаление. Также показано, что аллельный вариант -954С гена *NOS2* ассоциирован с повышенным уровнем мРНК *NOS2* в бронхобиоптатах больных БА, а высокий уровень мРНК *NOS2* прямо коррелирует с содержанием 3-нитротирозина и нитритов в БАЛ и выраженным снижением показателей ФВД [22, 8]. Также у пациентов с тяжелой астмой установлено наличие комбинации нефункциональных фенотипов *GSTT1*0/GSTM1*0* гена *GSTT1* и *GSTM1*, которые ассоциированы с высоким содержанием 3-нитротирозина и низким уровнем нитрозоглутатиона в БАЛ [22, 8]. У пациентов с данным генотипом наблюдается худшая динамика функциональных показателей течения болезни на фоне адекватной базисной терапии, что подтверждает возможный вклад данного генотипа в формирование терапевтической резистентности [22].

1.8.2 Гены, идентифицированные позиционным клонированием

Описанные выше гены изучены в рамках анализа ассоциаций с генами-кандидатами. Ряд генов, имеющих отношение к заболеванию, выявлен в рамках другого подхода – позиционного клонирования. Данный подход предполагает анализ в несколько этапов, что позволяет более точно определить генные варианты, имеющие значение в детерминации заболевания или признака.

Использование данного метода в изучении БА позволило определить вклад генов эпителия и гладкой мускулатуры бронхов в формирование БА, которые до этого не были учтены в ассоциативных исследованиях, сфокусированных главным образом на генах иммунной системы.

Первым геном, идентифицированным данным методом был *ADAM33*, кодирующий белок дезинтегрин и металлопротеазу 33 [65]. С момента

идентификации ассоциация *ADAM33* с БА и легочной функцией была подтверждена во множестве этнически различных популяций [219]. В отличие от большинства изученных генов *ADAM33* экспрессируется легочными фибробластами и гладкомышечными клетками бронхов в основном во время процесса разветвления бронхов в морфогенезе, что предполагает его важную роль в развитии легких.

Позже были идентифицированы гены *PHF11* (кодирует хроматин-зависимый ТФ семейства растительных гомеодоменов), *DPP10* (кодирует дипептидил-пептидазу-10), *GPRO* (кодирует G-белок связанный рецептор), *HLA-G* (кодирует антиген гистосовместимости Ib класса) для всех этих генов была показана связь с атопией, БА и тяжестью течения болезни [262, 263, 264, 50].

Одними из последних генов БА, идентифицированных позиционным клонированием, являются гены *IRAKM* (кодирует ИЛ-1-рецептор-ассоциированную киназу-M), и *COL29A1* (кодирует коллаген XXIX) [196]. Ген *IRAKM* является негативным регулятором пути TLR и ИЛ-1. Иммуногистохимическое исследование биоптатов легких показало, что *IRAKM* экспрессируется в эпителиальных клетках, что дает основание полагать прямую связь между гиперактивацией врожденного иммунитета и хроническим воспалением дыхательных путей.

1.8.3. Фармакогенетика БА

Сегодня накоплено достаточно знаний о генах, модифицирующих предрасположенность к БА и выраженность проявлений болезни. С точки зрения изучения терапевтической резистентности при БА особый интерес представляет оценка роли генетических факторов в детерминации ответа на лекарственные средства.

Так, например, для ряда препаратов показано, что 20–95% доли межиндивидуальной изменчивости по эффективности их метаболизма объясняется генетической вариабельностью [129]. Также установлено, что

генетическая изменчивость может быть ответственна за 60–80% вариации ответа на ряд противоастматических препаратов [103].

В связи с этим изучение изменчивости ответа является важной задачей, которая в ближайшей перспективе способна обеспечить персонифицированный подход к лечению пациента. Учитывая столь высокую актуальность практически все крупные фармкомпании при испытании современных лекарственных средств проводят изучение фармакогенетики. Более 120 препаратов, зарегистрированных на территории США, уже сегодня содержат маркировку с фармакогенетическими данными, которые клиницист может учитывать при их назначении [295].

В настоящее время опубликовано большое количество исследований, посвященных оценке роли генетических факторов в формировании индивидуального ответа на применение фармакотерапевтических режимов.

1.8.3.1 Бронходилататоры

Ингаляционные бета2-адреномиметики широко используются в терапии БА. Препараты данной группы применяются для лечения всех степеней БА, обострений, в качестве компонента базисной и симптоматической терапии. Действие бета2-агонистов заключается в расслаблении гладких мышц бронхов посредством прямой стимуляции бета2-адренорецепторов (β_2 -АР) [7]. Бронходилатация, обусловленная действием бета2-агонистов, происходит через последовательную активацию β_2 -АР, Gs-белка, аденилатциклазы, которая катализирует превращение АТФ в цАМФ, активирующей протеинкиназу А (ПКА) [312]. Активированная ПКА, в свою очередь, фосфорилирует ряд внутриклеточных белков, что сопровождается снижением концентрации внутриклеточного кальция и расслаблением гладкой мускулатуры бронхов.

Препараты КДБА являются средствами выбора при купировании приступов удушья, обострений БА, а также приступов удушья, спровоцированных физической нагрузкой. Препараты ДДБА используются в качестве дополнения к

базисной противовоспалительной терапии, обеспечивая контроль симптомов, а также для предотвращения бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой [11].

Ген *ADRB2* изучен во многих фармакогенетических исследованиях. В кодирующей области гена *ADRB2* выявлено 9 однонуклеотидных полиморфизмов, два из которых встречаются с высокой частотой и приводят к замене аминокислот Arg16Gly и Glu27Gln [137]. Исследования по анализу ассоциаций ответа на КДБА и полиморфизма Arg16Gly продемонстрировали, что пациенты, гомозиготные по Arg16, имеют более выраженный бронходилататорный ответ, чем гомозиготные по Gly16. Контроль болезни при регулярном применении альбутерола у пациентов, гомозиготных по Arg16, хуже, чем у пациентов гомозиготных по Gly16. Так у больных, гомозиготных по Arg16, регулярный прием альбутерола (7,2 ингаляции в день) по сравнению с его приемом по потребности (1,3 ингаляции в день) приводил к снижению утреннего и вечернего значений ПСВ. В то же время у больных с аллелями Gly16 и Gln27, принимавших альбутерол регулярно или по потребности, отсутствовали существенные изменения ОФВ1 [322]. Также в большинстве исследований была подтверждена ассоциация полиморфизмов *ADRB2* с бронходилататорным ответом на высокие дозы КДБА при лечении тяжелых обострений БА. Вероятно, такой эффект обусловлен наступлением более быстрой десенситизации рецептора в случае Arg16. При отмене альбутерола и переводе больных на прием ипратропия отмечено снижение утренней ПСВ при генотипе Arg16/Arg16 по сравнению с больными с Gly16/Gly16 [341]. Учитывая эти данные, можно предположить, что пациентам, гомозиготным по аллелю Arg16, следует избегать приема КДБА и использовать другие группы бронхолитиков [225].

Одним из механизмов потери бронхопротективной активности КДБА и ДДБА является десенситизация β_2 -АР при регулярном применении бета2-агонистов [7]. Данный процесс является результатом целого ряда связанных механизмов, включающих фосфорилирование рецептора ПКА, G-рецепторной киназой, переключения передачи внутриклеточного сигнала с Gs на Gi-белки, и снижение экспрессии рецептора на поверхности клетки. Таким образом,

происходит ограничение взаимодействия β 2-АР с его эффекторными системами и переключение передачи внутриклеточного сигнала на вторичные мессенджеры Gi-белка [7]. Процесс десенситизации β 2-АР является естественным биологическим механизмом ограничения функции рецептора при длительной его стимуляции агонистами.

Установлено, что полиморфизм гена *ADRB2* в кодонах 16 и 27 определяет выраженность негативной бета2-агонист-индуцированной рецепторной регуляции и десенситизации. Так, аллель Gly16 увеличивает склонность к негативной регуляции по сравнению с Arg16, в то время как аллель Glu27 связан с относительной устойчивостью рецептора по сравнению с Gln27 [86]. Особенно интересными представляются данные о том, что у больных БА, гомозиготных по Gly16, регулярно принимающих формотерол, эффект десенситизации доминирует над протективными эффектами полиморфизма Glu27 [61]. Имеются данные, позволяющие предполагать, что лица с Gly16-вариантом гена исходно находятся в состоянии негативной регуляции вследствие воздействия эндогенных катехоламинов и поэтому у них реже развивается тахифилаксия в ответ на регулярный прием бета2-агонистов, в то время как вариант Arg16 увеличивает негативную регуляцию β 2-АР [215]. Риск тахифилаксии существенно выше у носителей аллеля Gln27 и этот риск увеличивается у гомозиготных больных с аллелем Gln27/Gln27, а большинство больных с генотипом Glu27/Glu27 показывают хороший ответ на КДБА [310]. Учитывая эти данные можно предполагать, что мутация Gln27 на Glu27 ответственна за развитие низкой чувствительности к бета2-агонистам [54].

Опубликованы данные и о другой регуляторной последовательности гена *ADRB2* - полиморфизм в 3'-UTR-регионе этого гена. По имеющимся на сегодня данным этот полиморфизм связан с индуцированной агонистами негативной регуляцией рецептора и уровнем экспрессии [342].

Безусловно, все эти данные представляют значительный интерес, однако, они не в полной мере применимы к технологии ведения пациентов, рекомендованной современными регуляторными документами. Так, руководства по диагностике и

лечению БА рекомендуют использовать КДБА исключительно для купирования респираторных симптомов астмы в режиме по потребности [11]. Так как при регулярном применении возникает опасность повышенной аллергенной нагрузки, маскировки ухудшения БА, отсроченной медицинской помощи, а также выше вероятность развития внелегочных побочных эффектов [7]. Более того, частота использования КДБА при таком режиме дозирования является важным клиническим показателем, позволяющим оценить активность заболевания и уровень контроля.

Регулярный прием ДДБА в качестве монотерапии приводит к снижению уровня контроля астмы, что может быть обусловлено повышением БГР, развитием частичной толерантности, повышенной аллергенной нагрузкой и маскировкой симптомов. Поэтому ДДБА рекомендуется назначать только в сочетании с ИКС, нивелирующими нежелательные эффекты ДДБА. Хотя опубликованы результаты исследований, которые свидетельствуют о том, что генотип Arg16/Arg16 ассоциирован с недостаточным ответом на сальметерол, независимо от сопутствующего назначения ИКС [86].

1.8.3.2 Глюкокортикостероиды

Данная группа препаратов является золотым стандартом лечения БА, как с позиции эффективности, так и с позиции безопасности. Именно ответ на терапию ИКС лежит в основе всех существующих определений и классификаций терапевтической резистентности при БА. В связи с этим вклад генетической составляющей в ответ на терапию ИКС продолжает активно изучаться.

Установлена ассоциация между полиморфизмом гена *CRHR1*, кодирующего рецептор кортикотропин-рилизинг-гормона, с ответом на ИКС. Так, замена G на T в интроне 2 гена *CRHR1* ассоциирована с большей чувствительностью к ИКС и увеличением ОФВ1 в 1,5 раза в ответ на терапию ИКС [108].

Ген *TBX21*, кодирующий транскрипционный регулятор T-bet, также может вносить вклад в эффективность ИКС. В этом гене идентифицирован миссенс-вариант, приводящий к аминокислотной замене His33Gln. Для лиц,

гетерозиготных по данной замене при использовании ИКС продемонстрирована более высокая БГР в сравнении с гомозиготами по аллелю 33His или лицами, не получающими ИКС [317].

В гене *ADCY9*, кодирующем аденилатциклазу, также обнаружена миссенс-мутация, приводящая к замене аминокислот Ile772Met, что, по данным исследованиям на культуре клеток, модифицирует ответ на терапию стероидами [227].

Показана ассоциация эффективности ИКС с вариантом гена *FCER2*. Так, замена А на G в интроне 9 гена связана с повышенным риском обострений БА у детей, получающих терапию ИКС [136]. Риск обострений у гомозигот по этому варианту составил 3,95 (1,64–9,51) для белых детей и 3,08 (1,00–9,47) для афроамериканских детей. Данный вариант также ассоциирован с повышенным уровнем IgE и различием в экспрессии гена *FCER2*.

Апоптоз является ключевым механизмом действия глюкокортикоидов на элиминирование эозинофилов из дыхательных путей и купирования воспаления. В настоящее время ген *GLCCII* рассматривается как ранний маркер кортикостероид-индуцированного апоптоза так как экспрессия гена *GLCCII* существенно возрастает в присутствии глюкокортикоидов при БА. В 2010 году в полногеномном ассоциативном исследовании определен полиморфизм rs37973 данного гена, который ассоциирован со сниженной экспрессией *GLCCII* и, как следствие, с недостаточной эффективностью глюкокортикоидов [154].

Первичная резистентность к кортикостероидам ассоциирована с мутациями в гене ГКР [30]. Показано, что полиморфизм Ile559Asn в пятом экзоне гена ГКР *NR3C1* даже в случае гетерозиготности ассоциирован с резистентностью, а полиморфизмы Val729Ile, Ile747Met девятого экзона ассоциированы со снижением аффинности и транскрипционной активности рецептора [206]. Ряд зарубежных работ также показывает связь мутаций во втором экзоне *N363S* и *R23K* с нарушением чувствительности к кортикостероидам [171].

Важным аспектом изучения фармакогенетики является оценка генов детоксикации [30]. Транспорт кортикостероидов в клетку является пассивным

процессом за счет их гидрофильности. Существует и активный процесс выведения лигандов из клетки, опосредуемый АТФ-зависимым транспортным белком Р-гликопротеином 170 (Pgp170), кодируемым *MDR1* геном (multidrug-resistance gene) [254]. Полиморфизм С3435Т данного гена наиболее коррелирует с уровнем экспрессии и функционирования Pgp170 [254]. Установлено, что аллель 3435С и генотип 3435СС гена *MDR1* ассоциированы с БА и повышают риск развития заболевания в 4 раза [62]. Генотип 3435СС ассоциирован с ТРБА и повышает риск ее развития в 6 раз [49]. У пациентов с БА, носителей генотипа 3435СС гена *MDR1*, отмечается потребность в больших дозах СКС, чем у носителей других генотипов С3435Т гена *MDR1*, что может быть связано с повышенной активностью Р-гликопротеина 170 [49, 319]. При гетерозиготном носительстве С3435Т гена *MDR1* после купирования обострения заболевания по данным спирометрии регистрируется наименее выраженный бронхообструктивный синдром и бронхоспазм [49, 319].

Вышеописанные данные были зарегистрированы в рамках ассоциативного анализа, но гораздо больший интерес представляют экспрессионные исследования в отношении эффективности ИКС.

У пациентов терапевтически резистентной и чувствительной БА был проведен анализ уровня экспрессии 11812 генов в мононуклеарах периферической крови [271]. Модель исследования была построена на оценке предиктивной способности профилей генной экспрессии в отношении предсказания категории чувствительности к ИКС. По результатам анализа для 15 генов аккуратность предсказания составила 84%. Успех данного исследования продемонстрировал возможность и перспективы генетического подхода к классификации пациентов по чувствительности к ИКС, фенотипам течения болезни и разработки персонифицированных подходов к терапии БА.

1.8.4 Полногеномные исследования БА

Высокоразрешающие полногеномные ассоциативные исследования (ПГАИ) на сегодняшний день являются методической вершиной позиционного

клонирования. Астма - одно из первых заболеваний, для которого проведен ПГАИ. По данным этих исследований установлена сильная ассоциация БА с маркерами на хромосоме 17q21, в регионе с двумя близко расположенными генами, *ORMDL3* и *GSDML* [153]. Мощность данного исследования может характеризовать панель из 317 тыс. однонуклеотидных маркеров и проанализированные данные 2237 индивидов, в том числе 994 пациентов с детской БА и 1243 здоровых лиц. В результате этого исследования установлено, что генетические варианты, регулирующие экспрессию *ORMDL3*, предрасполагают к развитию БА детского возраста [37]. Данные были неоднократно воспроизведены в других независимых исследованиях для европеоидов, афроамериканцев и пуэрториканцев.

Доступность полногеномной карты полиморфизмов, платформ для полногеномного анализа транскриптома сделала возможным применение подхода «генетической геномики», модель которого сходна с ПГАИ. При использовании данного подхода в качестве фенотипической характеристики, генетические детерминанты которой нужно установить, рассматриваются уровни экспрессии генов. Данный метод позволяет идентифицировать регуляторные варианты, управляющие экспрессией и посредством этого определяющие функционирование ткани или органа в норме и при патологии. Исследования, проведенные с использованием данной методики, в настоящее время не только подтверждают ранее установленные локусы, ассоциированные с БА, но и позволяют идентифицировать уникальные полиморфизмы ранее не описанных молекулярных мишеней [36].

Резюме

Анализ проведенных исследований показал, что прогресс в изучении молекулярных и генетических паттернов тяжелой БА очевиден. Так, в доказательных исследованиях определены наиболее вероятные причинные факторы и молекулы, лежащие в основе формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности, охарактеризованы гены подверженности БА,

идентифицированы причинные полиморфизмы, последовательно происходит формирование базы фармакогенетических данных.

В то же время, утверждать, что сегодня имеется полное понимание механизмов формирования тяжелой астмы и терапевтической резистентности, рано. Во-первых, проведенные исследования достаточно разнородны по своим целям и задачам, проведены на неоднородных выборках пациентов с точки зрения степени тяжести и/или уровне контроля болезни субъектов, все это не позволяет объединить результаты этих исследований и сформировать полную теоретическую концепцию. Во-вторых, опубликовано ограниченное количество исследований, в которых в качестве субъектов выступали пациенты с ТРБА или представители фенотипов тяжелой астмы. В-третьих, подавляющее большинство исследований являются одномоментными, что не позволяет определить динамику изменения молекулярных и генетических профилей в ответ на фармакотерапию астмы.

В этой связи особенно актуальным представляется планирование и выполнение полногеномного исследования тяжелой терапевтически резистентной астмы, которое позволит оценить динамику профилей экспрессии генов в ответ на базисную терапию, что позволит определить механизмы формирования терапевтической резистентности и идентифицировать таргетные мишени фенотип-специфичной (персонифицированной) терапии.

Глава 2. Клинические группы и методы исследования

2.1 Протокол исследования

В соответствии с задачами, поставленными в работе, спланировано и проведено по единому протоколу проспективное интервенционное исследование в параллельных группах с продолжительностью лечебного периода 6 месяцев. Протокол исследования был разработан в соответствии со стандартом «Надлежащая клиническая практика» и другими применимыми нормативными актами [13].

В рамках протокола предусматривалось 4 визита с интервалами в 4, 8 и 12 недель (± 3 дня со времени предыдущего визита) (Рисунок 1):

- Визит 1: оценка соответствия пациента критериям включения/исключения, начало периода наблюдения;
- Визит 2: 4 недели ± 3 дня со времени Визита 1;
- Визит 3: 8 недель ± 3 дня со времени предыдущего Визита 2;
- Визит 4: 12 недель ± 3 дня со времени предыдущего Визита 3;

Все требования данного исследования распространялись только на период, начиная с Визита 1 и заканчивая Визитом 4. Исследование не предполагало периода скрининга и визитов последующего наблюдения.

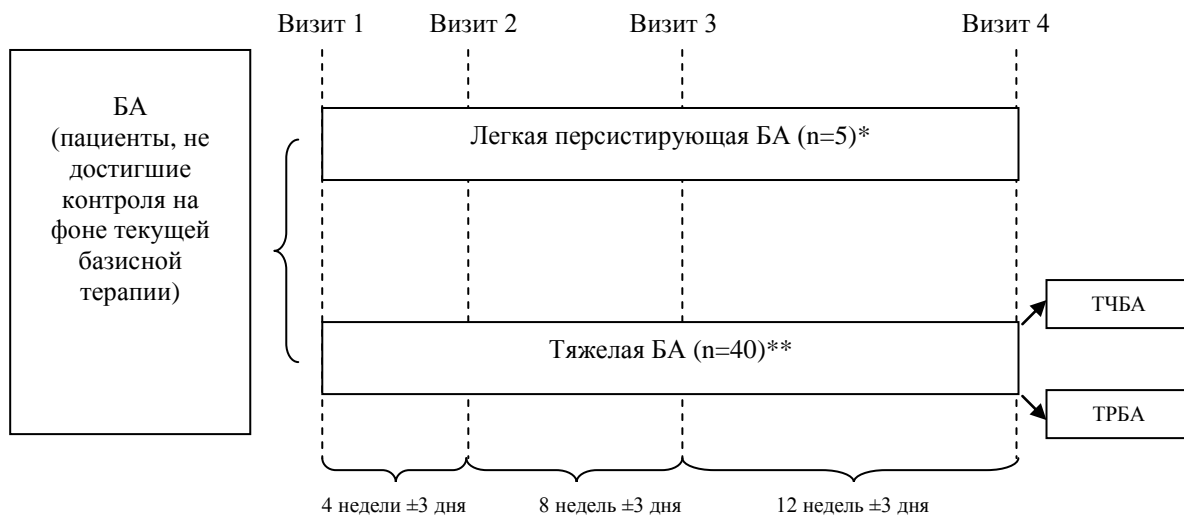


Рисунок 1. Схема исследования

Примечание:

Фармакотерапевтические режимы согласно степени тяжести заболевания:

* - Легкая степень тяжести: ФП – 250 мкг/сут по ФП

** - Тяжелая астма: Сальметерол/ФП – 1000 мкг/сут по ФП

Отбор участников исследования проводился согласно следующим параметрам:

Критерии включения:

1. Мужчины и женщины от 18 до 70 лет включительно, имеющие ранее подтвержденный диагноз БА;
2. Получение от пациента до участия в исследовании письменного информированного согласия, подписанного с указанием даты;
3. Документально подтвержденный клинический диагноз персистирующей БА длительностью как минимум 6 месяцев перед началом исследования;
4. Для легкой персистирующей астмы:
 - симптомы чаще 1 раза в неделю, но реже 1 раза в день; ночные симптомы чаще 2х раз в месяц, но реже 1 раза в неделю; ограничение физической активности при обострениях заболевания; вариабельность ПСВ (ОФВ1) 20-30%, при этом ОФВ1 и ПСВ $\geq 80\%$ (перед началом лечения) от должных значений;
 - объем терапии соответствует легкой интермиттирующей астме, симптомы на фоне терапии – легкой персистирующей;
 - объем терапии соответствует легкой персистирующей астме, симптомы на фоне терапии – легкой интермиттирующей.
5. Для тяжелой астмы:
 - на момент включения в исследование необходимо наличие одного и более следующих признаков: симптомы ежедневные; частые ночные симптомы; ограничение физической активности; вариабельность ПСВ (ОФВ1) более 30%, при этом ОФВ1 $\leq 60\%$ (перед началом лечения) от должного и ПСВ $\leq 60\%$ (перед началом лечения) от персонального лучшего значения;

- объем терапии более 500 мкг/сутки по флутиказона пропионату (ФП);
 - объем терапии соответствует легкой персистирующей астме, симптомы на фоне терапии – среднетяжелой;
 - объем терапии соответствует легкой персистирующей астме, симптомы на фоне терапии – тяжелой;
 - объем терапии соответствует среднетяжелой астме, симптомы на фоне терапии – легкой персистирующей;
 - объем терапии соответствует среднетяжелой астме, симптомы на фоне терапии – среднетяжелой,
 - объем терапии соответствует среднетяжелой астме, симптомы на фоне терапии – тяжелой;
6. На протяжении последних 6 месяцев до момента включения в исследование пациент должен получать любой из препаратов базисной терапии для лечения астмы в стабильной дозе. При этом, клиническое течение заболевания, на момент включения в исследование, в соответствии с критериями контроля должно было быть расценено как неконтролируемое.

Критерии невключения:

1. Отсутствие информированного согласия;
2. Курение >10 пачка/лет;
3. Признаки респираторной инфекции на момент включения больного в исследование;
4. Женщины в состоянии беременности и лактации;
5. Наличие любого онкологического заболевания;
6. Больные другими заболеваниями бронхо-легочной системы: хроническая обструктивная болезнь легких, дефицит α 1-антитрипсина, бронхэктатическая болезнь, буллезная эмфизема легких, кисты легких, асбестоз, резекция части легкого или трансплантация (по данным анамнеза и медицинской документации);

7. Больные с тяжелой сопутствующей патологией в стадии декомпенсации, которая, по мнению исследователя, может повлиять на результаты исследования;
8. Гельминтная инвазия (по данным анамнеза);
9. Алкоголизм и наркомания;
10. Психические расстройства, тяжелые поражения органов центральной нервной системы в стадии декомпенсации (по данным анамнеза);
11. Больные с гиперчувствительностью к проводимой терапии;
12. Потенциальная опасность от проведения функциональных тестов и инструментального обследования (по мнению врача исследователя);
13. Неспособность больного правильно осуществлять ингаляции исследуемого препарата, самостоятельно проводить пикфлоуметрию и заполнять дневник самонаблюдения;
14. Использование препаратов, эффект которых может повлиять на эффективность терапии астмы (например бета-блокаторы, ингибиторы АПФ, НПВС и т.п., по мнению врача исследователя);
15. Длительная (с общей продолжительностью всех эпизодов не менее 1 мес.) терапия СКС в любой дозе в течение 6 мес. до включения в исследование и в любое время в течение исследования;
16. Отказ пациента от участия в исследовании.

2.1.1 Изучаемые фармакотерапевтические режимы

На Визите 1 в соответствии с протоколом пациенту назначались следующие фармакотерапевтические режимы: легкая степень тяжести: ФП – 250 мкг/сут; тяжелая астма: сальметерол/ФП – 1000 мкг/сут по ФП

2.1.2 Оценка эффективности фармакотерапии

В течение лечебного периода и по его окончанию для оценки контроля использовались критерии GINA2006 (Таблица 2) [12].

Критерии контроля БА

Симптомы	Контролируемая БА	Частично контролируемая БА	Неконтролируемая БА
Дневные	Нет (≤ 2 в неделю)	> 2 в неделю	Наличие 3-х или более признаков частично контролируемой БА в течение 1 недели
Ограничение активности	Нет	Любой выраженности	
Ночные/ пробуждения	Нет	Есть	
Потребность в препаратах «скорой помощи»	Нет (≤ 2 в неделю)	> 2 в неделю	
Показатели функции легких (ПСВ или ОФВ1)	Норма	$< 80\%$ от должного (или от наилучшего показателя для данного пациента)	
Обострения	Нет	1 или более в год*	1 в неделю**

Примечания:

* Каждое обострение требует немедленной переоценки адекватности терапии

** По определению неделя с обострением – это неделя неконтролируемой БА

В качестве дополнительного инструмента для оценки контроля БА в исследовании использовался АСТ- тест [4].

В соответствии с оценкой эффективности терапии и критериями терапевтической резистентности (ATS, 2000) по окончании периода наблюдения, группа пациентов с тяжелой БА апостериорно разделена на терапевтически чувствительных (ТЧБА) и терапевтически резистентных пациентов (ТРБА) (Таблица 1) [270].

Дополнительно в качестве клинических конечных точек эффективности оценивались параметры:

- Среднее количество дневных симптомов за последние 7 дней,

непосредственно предшествующие визиту;

- Среднее количество ночных симптомов за последние 7 дней, непосредственно предшествующие визиту;
- Количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней, непосредственно предшествующие визиту;
- Количество бессимптомных дней за последние 28 дней, непосредственно предшествующие визиту;
- Количество обострений любой степени тяжести за последние 3 мес., непосредственно предшествующие визиту;
- ОФВ1;
- БГР (РС20);
- Доля пациентов, у которых достигнут контроль астмы к окончанию исследования в каждой изучаемой группе.

2.1.3 Оценка безопасности

В качестве переменной безопасности оценивалась количество/частота нежелательных явлений, количество/частота серьезных нежелательных явлений в течение периода наблюдения.

Термином нежелательное явление (НЯ) обозначают появление или ухудшение уже имеющегося признака, симптома, синдрома или заболевания у пациента во время периода наблюдения в данном клиническом исследовании, которое является непреднамеренным и неблагоприятным с медицинской точки зрения [13]. НЯ не подразумевает наличие причинно-следственной связи с исследуемыми препаратами или с процедурами клинического исследования. НЯ также считаются клинически значимые отклонения от нормы результатов диагностических процедур, включая отклонения от нормы лабораторных показателей (например, те, которые требуют проведения незапланированных диагностических процедур или лечения или приводят к досрочному прекращению участия в исследовании).

Серьезным нежелательным явлением (СНЯ) считается событие, которое независимо от дозы исследуемого препарата (включая передозировку):

- Приводит к смерти;
- Угрожает жизни пациента;
- Требуется госпитализации или увеличения продолжительности текущей госпитализации;
- Приводит к стойкой или значительной утрате трудоспособности/дееспособности;
- Является врожденным дефектом/пороком развития;
- Является значимым с медицинской точки зрения.

Для целей этого исследования, период наблюдения для регистрации НЯ начинался момента подписания пациентом информированного согласия и заканчивался на Визите 4.

Также для обеспечения безопасности пациента при наличии клинических признаков ухудшения течения болезни и необходимости назначения терапии, не предусмотренной протоколом исследования, пациент должен быть выведен из исследования (критерий исключения).

2.1.4 Этическая экспертиза

Данное исследование одобрено локальным комитетом по этике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздра России г. Томска (№ 2093 от 19.09.2011).

2.1.5 Мероприятия на визитах

Во время Визита 1 осуществлялся сбор следующих данных и проводились следующие процедуры:

1. Оценка соответствия критериям включения/невключения;
2. Подписание информированного согласия;
3. Демографические данные;
4. Продолжительность заболевания (стаж заболевания);
5. Сопутствующая патология;

6. Препараты, используемые для терапии астмы и сопутствующих заболеваний на момент включения в исследование;
7. Оценка контроля БА;
8. Объективное обследование;
9. Оценка параметров ФВД;
10. Тест на определение БГР, при отсутствии возможности проведения процедуры допускается использовать данные теста, проведенного в течение последних 6 месяцев при условии, что режим базисной терапии с момента обследования не изменялся;
11. Взятие лабораторных образцов;
12. Назначение терапии адекватной степени тяжести;
13. Выдача дневников самоконтроля;
14. Инструктирование пациента по проведению мониторинга ПСВ;
15. Заполнение опросника АСТ;
16. Планирование даты и времени Визита 2 (4 недели \pm 3 дня после даты Визита 1);

Во время Визита 2 осуществлялся сбор следующих данных и проводились следующие процедуры:

1. Оценка соответствия критериям исключения;
2. Сопутствующая патология, если произошли изменения с момента предыдущего визита;
3. Препараты, используемые для терапии астмы и сопутствующих заболеваний;
4. Оценка параметров ФВД;
5. Оценка контроля БА;
6. Заполнение опросника АСТ;
7. Оценка дневников самоконтроля;
8. Регистрация НЯ/СНЯ с момента предыдущего визита;
9. Выдача дневников самоконтроля;
10. Инструктирование пациента по проведению мониторинга ПСВ;

11. Планирование даты и времени Визита 3 (8 недель \pm 3 дня после даты Визита 2);

Во время Визита 3 осуществлялся сбор следующих данных и проводились следующие процедуры:

1. Оценка соответствия критериям исключения;
2. Сопутствующая патология, если произошли изменения с момента предыдущего визита;
3. Препараты, используемые для терапии астмы и сопутствующих заболеваний;
4. Оценка параметров ФВД;
5. Взятие лабораторных образцов;
6. Оценка контроля БА;
7. Заполнение опросника АСТ;
8. Оценка дневников самоконтроля;
9. Регистрация НЯ/СНЯ с момента предыдущего визита;
10. Выдача дневников самоконтроля;
11. Инструктирование пациента по проведению мониторингования ПСВ;
12. Планирование даты и времени Визита 4 (12 недель \pm 3 дня после даты Визита 2);

Во время Визита 4 осуществлялся сбор следующих данных и проводились следующие процедуры:

1. Оценка соответствия критериям исключения;
2. Сопутствующая патология, если произошли изменения с момента предыдущего визита;
3. Препараты, используемые для терапии астмы и сопутствующих заболеваний;
4. Оценка параметров ФВД;
5. Тест на определение БГР;
6. Взятие лабораторных образцов;
7. Оценка контроля БА;

8. Заполнение опросника АСТ;
9. Оценка дневников самоконтроля;
10. Регистрация НЯ/СНЯ с момента предыдущего визита;
11. Оценка соответствия критериям терапевтической резистентности.

В рамках данного исследования пациент мог совершать любое количество незапланированных визитов (визитов, не совпадающих по времени с визитами 2, 3, 4). Эти визиты могли быть запланированы врачом-исследователем, или быть инициированы самим пациентом. Протокол исследования не предполагал каких-либо заранее определенных действий в таких ситуациях (включая заполнение индивидуальной регистрационной карты), за исключением случаев, когда на незапланированном визите пациент соответствует критериям исключения. В этом случае пациент должен был быть исключен из исследования.

2.1.6 Преждевременное исключение из исследования

Пациент считался преждевременно прекратившим участие в исследовании в случае соответствия критериям исключения. Или отзыва информированного согласия без указания причин.

2.2 Методы исследования

В соответствии с мероприятиями на визитах в данной работе были применены следующие методы исследования.

2.2.1 Анамнестический метод

С целью выяснения анамнеза проводился анализ медицинской документации (выписки из истории болезни, Ф112), помимо этого было проведено интервьюирование пациентов (информация о течение заболевания, частоте симптомов, приеме КДБА, получаемой базисной терапии, приеме СКС).

В рамках данного исследования дополнительных обследований по поводу сопутствующей патологии не проводилось. Сопутствующая патология

регистрировалась на основании данных медицинской документации (выписки из истории болезни, Ф112), и интервьюирования пациентов. При этом сбор данных о сопутствующей патологии и терапии сопутствующих заболеваний осуществлялся с целью верификации отсутствия соответствия пациента критериям исключения.

2.2.2 Клинический метод

Каждый пациент, включенный в исследование, после подписания информированного согласия, выяснения анамнеза и проведения интервьюирования обследован с применением методов физикального осмотра больного.

Диагноз «бронхиальная астма» верифицировался на основании следующих критериев: наличие анамнеза, характерного для астмы, типичных клинических симптомов заболевания и функциональных параметров.

На момент включения степень тяжести заболевания устанавливалась в соответствии с классификацией, изложенной в GINA 2006 [12].

Выраженность клинических симптомов оценивалась пациентом ежедневно в вечернее время, после проведения пикфлоуметрии и приема средств базисной терапии, учитывались симптомы за период с 22 часов предыдущего дня до 22 часов текущего дня.

Выраженность дневных симптомов оценивается в баллах на основании «шкалы дневных симптомов»:

- 0 - отсутствие симптомов в течение дня;
- 1 - единичный кратковременный эпизод в течение дня;
- 2 - два и более кратковременных эпизодов в течение дня;
- 3 - симптомы отмечаются большую часть дня, но не изменяют нормальную повседневную активность;
- 4 - симптомы отмечаются большую часть дня и влияют на повседневную активность;
- 5 - симптомы настолько тяжелы, что не позволяют посещать работу или заниматься повседневной деятельностью.

Выраженность ночных симптомов оценивается в баллах на основании “шкалы ночных симптомов”:

0 - отсутствие симптомов в течение ночи или при утреннем пробуждении;

1 - отсутствие симптомов в течение ночи, но симптомы появляются при пробуждении утром в обычное время;

2 - отмечаются ночные симптомы, которые не приводят к пробуждению (пробуждение в обычное время);

3 - отмечаются ночные симптомы, приводящие к пробуждению (включая раннее вставание);

4 - отмечаются ночные симптомы, приводящие к бодрствованию большую часть ночи;

5 - симптомы настолько тяжелы, что не позволяют заснуть вообще.

Данные о выраженности симптомов регистрировались в дневнике самоконтроля, который на визите оценивался врачом.

Потребность в КДБА - среднее число ингаляций бета2-агонистов в сутки, которые больной использовал для купирования симптомов астмы, за предшествующие 7 дней.

Число дней без симптомов - количество дней, в течение которых у больного не отмечалось симптомов БА и он не использовал КДБА. По окончании 4-х недельного периода наблюдения, врач рассчитывал суммарное число дней, во время которых оценки по шкалам дневных и ночных симптомов, а также потребность в КДБА, были равны нулю.

2.2.3 Оценка контроля астмы.

В качестве дополнительного инструмента для оценки контроля БА в исследовании использовался АСТ- тест [4]. Заполнение АСТ-теста пациентом являлось обязательной процедурой на каждом визите. При интерпретации результатов использована следующая градация баллов АСТ-теста: менее 20 баллов – неконтролируемое течение; от 20 до 24 баллов – хороший контроль заболевания; 25 баллов – полный контроль; от 20 до 25 баллов – контролируемое

течение астмы.

2.2.4 Исследование ПСВ (пикфлоуметрия)

В течение лечебного периода каждый пациент измерял ПСВ по стандартной методике с использованием пикфлоуметров.

Условия проведения:

- измерение ПСВ проводилось 2 раза в день утром и вечером;
- рекомендуемое время измерения: утром - сразу после пробуждения, до приема противоастматических препаратов и вечером - перед сном, до приема противоастматических препаратов.
- перед исследованием больного тщательно инструктировали (акцент на полноте вдоха и выдоха, максимальной усилии при выполнении форсированного маневра, предотвращении утечки воздуха), а процедура продемонстрирована;
- больной выполнял маневр стоя;
- пациент выполнял минимум три попытки. В дневник самоконтроля заносилось максимальное значение. На очередном плановом визите дневник самоконтроля передавался врачу-исследователю.
- пациент должен был пользоваться одним и тем же пикфлоуметром на протяжении всего лечебного периода.

Расчет показателей:

- параметр ПСВ, измеренный в утренние часы (ПСВ утро) - рассчитывался как среднее значение ПСВ утро, измеренное на протяжении предшествующего месяца.
- параметр ПСВ, измеренный в вечерние часы (ПСВ вечер) - рассчитывался как среднее значение ПСВ вечер, измеренное на протяжении предшествующего месяца.
- Среднесуточные значения ПСВ или среднесуточная проходимость бронхов (СПБ) – рассчитывались по формуле:

$$\text{СПБ}^* = (\text{ПСВ утро} + \text{ПСВ вечер}) / 2.$$

$$\text{СПБ}\% = (\text{СПБ} / \text{ПСВ норма}) * 100.$$

Примечание: * - в данном случае использовались среднемесячные значения ПСВ утро и ПСВ вечер.

2.2.5 Оценка параметров ФВД (спирометрия)

Исследование ФВД выполняли по стандартной методике (анализ кривой поток-объем и показателей спирометрии) на аппарате MasterScreen, CareFusion, США [304].

Показания:

- оценка выраженности обструктивной и рестриктивной дыхательной недостаточности.

Условия проведения исследования ФВД:

1. Перед проведением исследования пациент не должен применять:

- изопреналин, орципреналин, сальбутамол, тербуталин, фенотерол на протяжении не менее 8 часов;
- ипратропиума бромид, эуфиллин на протяжении не менее 24 часов;
- сальметерол, формотерол, включая препараты Серетид и Симбикорт на протяжении не менее 48 часов;
- теофиллины медленного высвобождения на протяжении не менее 48 часов;
- в день исследования необходимо воздержаться от употребления кофе, чая, напитков на основе колы, шоколада.

2. Время проведения исследования – утро, до приема любых препаратов;

3. 15 минут до исследования пациент должен провести спокойно;

4. Нельзя проводить тест сразу же после еды;

5. Перед исследованием пациент должен быть тщательно проинструктирован (акцент на полноте вдоха и выдоха, максимальности усилий при выполнении форсированных маневров, предотвращении утечки воздуха), а процедура продемонстрирована;

6. Пациент должен находиться в положении сидя при всех тестах;

7. Обязателен носовой зажим;
8. Полученные значения округляются до одного или двух знаков после запятой;
9. Весь тест должен быть выполнен в соответствии с требованиями ATS [304].

2.2.6 Исследование БГР

Степень реактивности дыхательных путей оценивали при помощи провокационного теста с метахолином при исходных значениях ОФВ₁, превышающих 75% от должных величин. Исследование проводилось с использованием спирографа MasterScreen, CareFusion, США и небулайзера APSpro, этой же фирмы. Результаты выражались как концентрация метахолина, вызывающая 20% падение ОФВ₁ (PC20). PC20 вычисляли методом линейной интерполяции по общепринятой формуле [71].

Показания:

- оценка уровня неспецифической БГР.

Противопоказания (относительные):

- ПСВ < 70% от должных значений;
- артериальная гипертензия;
- аневризма аорты;
- эпилепсия, требующая медикаментозного лечения.

Условия проведения:

- отсутствие признаков инфекции верхних и нижних дыхательных путей в течение не менее 4 недель;
- пациент позитивно относится к пробе;
- пациент проинструктирован о прекращении пробы при появлении беспокоящих его симптомов;
- пациент не должен применять изопреналин, орципреналин, сальбутамол, тербуталин, фенотерол – 8 часов, ипратропиума бромид – 24 часа, сальметерол, формотерол – 48 часов, окситропиум – 7 дней, эуфиллин – 24 часа, теофиллины длительного действия – 48 часов, пероральные бета-агонисты – 12 часов, пероральные β-агонисты длительного действия – 24

часа, кромогликат натрия – 8 часов, недокромил натрия – 48 часов, гидроксозин и цетиризин – 3 дня, антилейкотриеновые препараты – 24 часа. Так же в день исследования необходимо воздержаться от употребления кофе, чая, напитков на основе колы, шоколада;

- рекомендуемое время проведения пробы – через 10 часов после приема вечерних лекарственных средств, до приема препаратов в утренние часы на голодный желудок или после легкого завтрака.
- не допускается проведение других бронхопровокационных тестов в течение данных суток.

При проведении теста врач должен иметь все необходимое для оказания неотложной помощи: кислород, ингаляционные и внутривенные бронходилататоры.

Необходимое оборудование:

- спироанализатор (MasterScreen, CareFusion);
- APS pro небулайзер (CareFusion);
- метахолин в концентрациях 0,0625; 0,25; 1,0; 4,0; 8,0; 16,0 мг/мл;
- 0,9% раствор хлорида натрия;
- высокообъемный спейсер;
- набор лекарственных средств: сальбутамол, эуфиллин 2,4%.

Техника проведения:

Исходные значения:

Перед началом пробы пациент должен находиться в покое в течение 10 минут, после чего производят трехкратное измерение исходных показателей ФВД (ОФВ1, ПСВ). Регистрируют максимальные значения показателей. Повторно исходные значения ФВД определяют через 15 минут, непосредственно перед выполнением нагрузочной пробы (исход 2). В случае, если расхождения значений ОФВ1 (ПСВ) между попытками < 10%, то корректное проведение пробы с метахолином считается возможным. При расхождении значений ОФВ1 (ПСВ)

более чем на 10% (от большего значения к меньшему), результаты не могут считаться достоверными. В этом случае, исследователь может повторить регистрацию исходных показателей ФВД еще через 15 минут. В случае расхождения результатов между сериями измерений ФВД $> 10\%$ проба переносится на следующий день.

Техника выполнения пробы:

- аэрозоль ингалируется через APS pro небулайзер (5 глубоких спокойных вдохов продолжительностью 0,6 секунды);
- вначале ингалируется чистый растворитель (0,9% раствор хлорида натрия), затем раствор метахолина (через другую насадку небулайзера) в возрастающих концентрациях: 0,0625 мг/мл, 0,25 мг/мл, 1 мг/мл, 4 мг/мл, 8 мг/мл, 16 мг/мл.
- показатели ФВД (ОФВ1 и ПСВ) определяются не ранее чем через 30 секунд после ингаляции аэрозоля и не позднее чем через 1,5 минуты и выражаются в процентах по отношению к исходному значению, измеренному непосредственно перед началом пробы (исход 2).
- тест начинается с ингаляции 0,9% раствора хлорида натрия. При снижении ОФВ1 (ПСВ) $< 20\%$ переходят на ингаляцию метахолина в концентрации 0,0625 мг/мл.
- тест прекращается при снижении значения ОФВ1 (ПСВ) на 20% от исходного и более или по достижении концентрации метахолина 16 мг/мл.
- Концентрация метахолина, приведшая к $\geq 20\%$ снижению ОФВ1, рассматривается как бронхопровоцирующая – РС20. Значение РС20 регистрируется.

Приготовленные рабочие разведения не хранятся. Для проведения теста следующему пациенту необходимо приготовление новых рабочих разведений.

Использование КДБА:

- КДБА (сальбутамол 4 дозы через спейсер) назначаются всем пациентам после достижения бронхопровоцирующей концентрации метахолина (PC20);
- при неэффективности 4 доз сальбутамола (через спейсер) в течение 30 минут врач назначает терапию, которую он считает необходимой. Решается вопрос о целесообразности дальнейшего участия пациента в данном исследовании;
- если бронхопровоцирующая концентрация метахолина не достигнута ($PC_{20} > 16$ мг/мл), то КДБА назначается пациенту по окончании пробы.

Завершение исследования:

- пациент может покинуть лечебное учреждение, если значение ОФВ1 (ПСВ) достигло 90% от исходных значений;
- пациенту должны быть даны инструкции на случай появления бронхоспазма в течение ближайших суток.
- все тесты выполнены в соответствии с требованиями ATS [304].

2.2.7 Определение геномного уровня экспрессии

Метод анализа глобальной экспрессии генов человека с помощью технологии микрочипов в настоящее время является наиболее широко-используемым и аналитически точным методом исследования в этой области. Фирма Affymetrix является лидером в развитии технологии этого направления. Выбранный для данного проекта микрочип содержит пробы для анализа примерно одного миллиона экзонов генома человека и предназначен для высокоразрешающего анализа уровня генной экспрессии, включая анализ изоморфизма на основе характеристики событий сплайсинга на уровне всего генома.

На репрезентативной для проведения генетического исследования выборке пациентов определен глобальный уровень экспрессии генов с помощью микрочипа Affymetrix, содержащего пробы для 28 875 генов.

Во время Визитов 1, 3, 4 у субъектов исследования однократно натощак было проведено взятие венозной крови из локтевой вены в количестве 10 мл.

Кровь для исследования была собрана в пробирки PAXgene (QIAGEN, Германия) и помещена на -20С до выделения РНК. Выделение РНК проводили с помощью набора PAXgene Blood RNA kit (QIAGEN, Германия). Концентрацию РНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Германия). Качество РНК оценивали с помощью прибора Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, США). Как показатель меры качества РНК прибор рассчитывал параметр RIN (RNA integrity number, показатель чистоты РНК), уровень которого варьирует в пределах от 2 до 10. Для проведения дальнейшего анализа исследовали образцы с RIN не менее 8. Для микрочипового анализа использовали 250 нг РНК, которую амплифицировали и конвертировали в комплементарную ДНК (кДНК) с помощью набора WT expression kit (Ambion, США). Фрагментацию кДНК, терминальную маркировку и подготовку гибридизационного коктейля проводили с помощью соответствующих наборов компании Affymetrix. Гибридизацию проводили с использованием картриджных микрочипов на оборудовании (гибридизационная камера, промывочная станция, сканер) и с использованием рекомендованных протоколов компании Affymetrix.

Полученные после сканирования изображения микрочипов конвертировали в экспрессионные сигналы с помощью программного обеспечения компании Affymetrix, которое сохраняет результаты конверсии в файлах формата .CEL. Эти файлы затем использовали для оценки качества мечения и гибридизации микрочипов, а также препроцессинга, включающего коррекцию на фон, квантильную нормализацию и суммирование экспрессионных сигналов с помощью программы Affymetrix Power Tools 1.12.0.

2.2.7.1 Оценка дифференциальной экспрессии генов

Анализ проводили в программной среде R. Уровень экспрессии генов в различных группах сравнивали путем построения линейных моделей с помощью пакета *limma* [300], включая анализ линейных контрастов между сравниваемыми

группами (легкая БА, ТРБА, ТЧБА). Поправку на множественные сравнения проводили с помощью подхода False Discovery Rate (FDR) [84].

Для построения перечня генов с дифференциальной экспрессией значение $p < 0,05$ после поправки на множественные сравнения расценивали как статистически значимое в любом из трех сравниваемых контрастов.

2.2.7.2 Оценка генных онтологий и KEGG путей

Генная онтология (Gene Ontology, GO) – биоинформатический проект, посвященный унификации атрибутов (прежде всего – функциональных характеристик) генов и генных продуктов всех биологических видов. Целями проекта является поддержание и пополнение определенного списка атрибутов генов и их продуктов; составление аннотаций к генам и продуктам; распространение информации и инструментов доступа к базе данных проекта [149, 109].

В рамках этого проекта разработаны и постоянно обновляются три структурированных набора терминов и атрибутов (онтологий) генов, которые характеризуют продукты генов с точки зрения их ассоциаций с биологическим процессом, клеточным компонентом либо молекулярной функцией.

С позиции генных онтологий биологический процесс представляет собой ряд событий, обусловленных одной или несколькими молекулярными функциями. В то время как молекулярная функция описывает активность на молекулярном уровне вне связи с местом и контекстом реализации данной функции. Необходимо отметить, что молекулярные функции, в целом, соответствуют действиям, которые могут выполняться отдельными генными продуктами, но некоторые действия выполняются комплексами генных продуктов.

Также в рамках проведенного исследования проанализированы KEGG пути (KEGG pathway) с использованием Киотской Энциклопедии Генов и Геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) [200]. Этот проект объединяет всю известную информацию о молекулярных взаимодействиях в рамках базы данных путей (the "Pathway" database), информацию о генах и протеинах в рамках

базы данных генов (gene database) и информацию о биологических компонентах и реакциях (compound and reaction databases) [311].

Генные онтологии и KEGG пути проанализированы с учетом направления изменения экспрессии (повышение или снижение). В анализ включены онтологии и пути со статистической значимостью $p < 0,05$.

2.2.7.3 Кластерный анализ

С целью оценки динамики генной экспрессии в течение лечебного периода для определения молекулярно-генетических механизмов формирования терапевтической резистентности проведен кластерный анализ временных рядов.

Метод основан на алгоритме с-средних (c-means), который заключается в расчете средних значений («центров масс») множества переменных (в данном случае – уровней генной экспрессии) и отнесении отдельных объектов (генов) к одной из групп на основании близости уровня их экспрессии к одному из «центров масс».

Расчет средних значений осуществляется для каждого временного периода отдельно; кластеры формируются для совокупности временных периодов, и гены относят к тому или иному кластеру на основании динамики уровня их экспрессии, соответствующей таковой для кластера [208].

В ходе проведенного анализа для каждой из сравниваемых групп проанализировано 5000 наиболее изменчивых генов, которые в результате определения общих закономерностей изменения экспрессии во времени сформировали 9 кластеров. Также в ходе анализа оценена связь между кластерами в пределах одной группы сравнения.

2.2.8 Статистический анализ клинико-функциональных параметров

Для статистической обработки был использован пакет программ Statistica for Windows version 6.0. При сравнении частот качественных признаков использовался критерий χ^2 или 2-сторонний критерий Фишера. Для оценки различия средних в попарно не связанных выборках применяли U-критерий

Манна-Уитни. Для оценки различия средних в связанных выборках проводили анализ Фридмана. Для оценки вероятностей использовали программу Statcalc version 6.

Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные в виде $X \pm x$, где X – среднее арифметическое, x – ошибка среднего. Разницу значений считали значимой при $p < 0,05$.

Глава 3. Клиническая характеристика изучаемой популяции и оценка эффективности терапии

Целью данного исследования является оценка полногеномной характеристики уровня экспрессии генов исходно и в динамике у больных тяжелой бронхиальной астмой.

В соответствии с поставленной целью размер выборки является достаточным для достижения цели исследования и соотносится с данными мировых исследований [134, 333].

В соответствии с единым протоколом в исследование включено 5 пациентов с легкой персистирующей БА (Группа 1), и 40 пациентов с тяжелой формой заболевания (Группа 2).

Сформированные группы были сопоставимы по возрасту, но при этом неоднородны по гендерному признаку (Таблица 3). Так, в целом, пациенты сравниваемых групп, характеризовались превалированием женщин, но только в Группе 2 данное преобладание было достоверным (OR 3,44; 95% CI 1,35-8,96).

Таблица 3

Распределение пациентов по полу и возрасту

Группы	Женщины		Мужчины		Средний возраст, лет
	Абс.	%	Абс.	%	
Группа 1 (n=5)	4	-	1	-	53,80±0,97
Группа 2 (n=40)	31	77,5*	9	22,5	49,28±2,04

Примечания:

* – $p < 0,05$ по сравнению с мужчинами

3.1 Исходная клиническая характеристика изучаемой популяции

3.1.1. Группа 1 (легкая персистирующая БА)

Статистический анализ проведен для данных, полученных от 5 пациентов, средний возраст которых составил 53,80±0,97 года.

В соответствии с критериями отбора в данную группу включались пациенты с легкой персистирующей БА (GINA2006).

На момент включения все пациенты получали регулярную базисную противовоспалительную терапию в объеме 125 мкг/сут ФП и сальбутамол в режиме по требованию.

На момент Визита 1 пациенты данной группы регистрировали дневные симптомы в течение 6 дней в неделю и предъявляли жалобы на ночные пробуждения из-за астмы не чаще одного раза в неделю. При этом представители данной группы не госпитализировались по поводу астмы в течение последнего года, не испытывали потребности в неотложной медицинской помощи и не имели незапланированных визитов к врачу (Таблица 4). Параметр ОФВ1 на момент визита включения был в пределах условной возрастной нормы. При снижении ОФВ1 по показаниям проводился тест на обратимость бронхиальной обструкции. Средний балл АСТ-теста составил $20,40 \pm 0,98$ балла, что соответствует контролируемому течению заболевания. Однако необходимо отметить, что в рамках данного исследования АСТ-тест использовался лишь как дополнительный инструмент оценки контроля, и при определении контроля приоритетными считались критерии GINA2006. На фоне отсутствия снижения основных параметров ФВД, высокого балла АСТ-теста, тест на БГР был положительным ($PC20=4,01 \pm 3,01$ мг/мл), что свидетельствует о персистенции воспаления в дыхательных путях. Параметры клинической характеристики были сопоставимы у мужчин и женщин (Таблица 4).

Таблица 4

Клиническая характеристика Группа 1 (легкая персистирующая БА)

Показатель	Всего (n=5)	Женщины (n=4)	Мужчины (n=1)
Возраст (лет)	$53,80 \pm 0,97$	$54,50 \pm 0,87$	51,00
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	$6,00 \pm 1,97$	$6,50 \pm 2,47$	4,00

Среднее кол-во дневных симптомов в день	0,86±0,28	0,93±0,35	0,57
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	0,80±0,20	0,75±0,25	1,00
Среднее кол-во ночных симптомов	0,11±0,03	0,11±0,04	0,14
Стаж заболевания (лет)	9,00±2,24	7,75±2,39	14,00
Возраст манифестации астмы, полных лет	41,60±4,07	43,00±4,93	36,00
Частота госпитализаций за последние 12 мес.	0	0	0
Частота вызовов скорой помощи за последние 12 мес.	0	0	0
Кол-во визитов к врачу за последние 12 мес.	0	0	0
ОФВ1 (%)	99,36±5,57	99,25±7,18	99,80
ПСВ (%)	116,86±5,41	116,48±6,97	118,40
ФЖЕЛ (%)	110,74±5,33	112,23±6,61	104,80
МОС25 (%)	94,10±10,80	88,75±12,10	115,50
МОС50 (%)	65,88±6,19	60,98±4,88	85,50
МОС75 (%)	35,72±4,50	32,33±3,82	49,30
Дельта ОФВ1 (%)	22,65±0,45	22,65±0,45	
РС20 (мг/мл)	4,01±3,01	5,00±3,61	0,06
АСТ-тест (балл)	20,40±0,98	19,75±0,95	23,00

Субъекты данной группы испытывали ограничение физической активности. В качестве триггера проявления симптомов пациенты указывали на контакт с аллергеном, острые респираторные заболевания, холодный воздух, эмоции, физическую активность и резкие запахи.

У большинства пациентов на момент визита включения проведены кожные аллергопробы (КАП), которые были положительными. По результатам проведения аллергопроб зарегистрирована пыльцевая, бытовая и эпидермальная сенсibilизация.

Большинство пациентов указывали на наследственность по атопии, преимущественно по отцовской линии. Наиболее распространенными атопическими состояниями у близких родственников были атопический дерматит и аллергический ринит. При этом среди самих пациентов в анамнезе зарегистрированы симптомы таких состояний как аллергический ринит и отек Квинке. В качестве сопутствующей патологии также зарегистрирована гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ), однако терапия сопутствующей патологии на момент включения была расценена врачом-исследователем как адекватная.

3.1.2. Группа 2 (тяжелая БА)

Статистический анализ проведен для данных, полученных от 40 пациентов, средний возраст которых составил $49,28 \pm 2,04$ года.

В соответствии с критериями отбора в данную группу включались пациенты с тяжелой БА (GINA2006).

На момент включения все пациенты данной группы регулярно получали комбинированную базисную противовоспалительную терапию в объемах от 250 до 750 мкг/сут по ФП.

На фоне регулярной комбинированной базисной противовоспалительной терапии пациенты данной группы ежедневно регистрировали дневные симптомы, в течение 4 ночей в неделю регистрировали ночные пробуждения из-за астмы, испытывали потребность в неотложной медицинской помощи и в среднем один раз в 4 месяца в незапланированном порядке обращались к врачу по поводу астмы. На момент включения зарегистрировано снижение ОФВ₁ ($65,03 \pm 1,43\%$), соответствующих второй степени нарушений. Тест на обратимость бронхиальной обструкции был положительным. В связи с выраженным снижением ОФВ₁

большинству пациентов тест на БГР был противопоказан (n=37), однако при отсутствии противопоказаний результаты теста свидетельствовали о выраженной гиперреактивности бронхов (PC20=0,0625 мг/мл). По результатам АСТ-теста зарегистрировано неконтролируемое течение болезни (13,85±0,57 балла). Параметры клинической характеристики в целом были сопоставимы у мужчин и женщин, за исключением возраста – мужчины были моложе (Таблица 5).

Таблица 5

Клиническая характеристика Группа 2 (тяжелая БА)

Показатель	Всего (n=40)	Женщины (n=31)	Мужчины (n=9)
Возраст (лет)	49,28±2,04	52,10±1,76	39,56±5,89*
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	16,90±1,47	17,77±1,66	13,89±3,18
Среднее кол-во дневных симптомов в день	2,41±0,21	2,54±0,24	1,98±0,45
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	3,80±0,64	4,13±0,77	2,67±1,03
Среднее кол-во ночных симптомов	0,54±0,09	0,59±0,11	0,38±0,15
Стаж заболевания (лет)	13,20±1,44	13,58±1,77	11,89±2,12
Возраст манифестации астмы, полных лет	30,73±2,71	32,16±2,81	25,78±7,30
Частота госпитализаций за последние 12 мес.	0,25±0,09	0,23±0,09	0,33±0,24
Частота вызовов скорой помощи за последние 12 мес.	1,38±0,64	1,00±0,55	2,67±2,19
Кол-во визитов к врачу за последние 12 мес.	3,18±0,72	3,00±0,71	3,78±2,15

ОФВ1 (%)	65,03±1,43	64,58±1,48	66,60±3,98
ПСВ (%)	71,18±2,28	69,17±2,52	78,08±4,81
ФЖЕЛ (%)	86,35±2,02	86,77±2,37	84,90±3,96
МОС25 (%)	42,34±2,41	40,55±2,33	48,51±7,05
МОС50 (%)	31,88±1,89	29,23±1,75	41,00±4,91*
МОС75 (%)	31,52±2,51	28,13±2,00	42,79±7,79
Дельта ОФВ1 (%)	28,10±1,84	29,72±2,12	22,54±3,12
РС20 (мг/мл)	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00
АСТ-тест (балл)	13,85±0,57	13,58±0,69	14,78±0,91

Примечания:

* – $p < 0,05$ по сравнению с женщинами

Подавляющее большинство пациентов данной группы испытывали ограничения физической активности. Каждый пациент отмечал 2 и более триггера проявлений симптомов болезни.

У 80% пациентов на момент визита включения проведены КАП и у 84,4% пациентов они были положительными. По результатам проведения аллергопроб зарегистрирована пыльцевая, бытовая, эпидермальная, а также грибковая сенсibilизация.

Больше половины пациентов (60%) указывали на наследственность по атопии, преимущественно по материнской линии. Наиболее распространенными атопическими состояниями у близких родственников были атопический дерматит и крапивница. При этом среди самих пациентов атопические состояния имели низкую распространенность. Так только у 3% пациентов зарегистрирован атопический дерматит, у 37,5% - аллергический ринит, у 12,5% - крапивница и у 15% - отек Квинке. При этом 12,5% пациентов имели различные сочетания двух и более атопических состояний. В качестве сопутствующей патологии зарегистрированы ГЭРБ, синуситы, непереносимость НПВС и другая патология. При этом терапия сопутствующей патологии на момент включения только у половины пациентов расценена врачом-исследователем как адекватная.

3.1.3. Сравнительная характеристика исходных параметров

На момент включения сравниваемые группы были сопоставимы по возрасту, но неоднородны по гендерному признаку. Пациенты сравниваемых групп, характеризовались превалированием женщин, но только в группе тяжелой БА данное преобладание было достоверным (OR 3,44; 95% CI 1,35-8,96).

В соответствии с целью исследования в протокол включены пациенты с различной степенью тяжести болезни и, следовательно, сравниваемые группы различались по показателям, характеризующим клиническое течение БА (количество дневных и ночных симптомов, количество незапланированных визитов к врачу), объективных параметров контроля (параметры ФВД, тест на БГР, результат АСТ-теста) (Таблица 6).

Таблица 6

Сравнительная клиническая характеристика

Показатель	Группа 1 (n=5)	Группа 2 (n=40)
Возраст (лет)	53,80±0,97	49,28±2,04
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	6,00±1,97*	16,90±1,47
Среднее кол-во дневных симптомов в день	0,86±0,28*	2,41±0,21
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	0,80±0,20	3,80±0,64
Среднее кол-во ночных симптомов	0,11±0,03	0,54±0,09
Стаж заболевания (лет)	9,00±2,24	13,20±1,44
Возраст манифестации астмы, полных лет	41,60±4,07	30,73±2,71
Частота госпитализаций за последние 12 мес.	0,00±0,00	0,25±0,09
Частота вызовов скорой помощи за	0,00±0,00	1,38±0,64

последние 12 мес.		
Кол-во визитов к врачу за последние 12 мес.	0,00±0,00*	3,18±0,72
ОФВ1 (%)	99,36±5,57*	65,03±1,43
ПСВ (%)	116,86±5,41*	71,18±2,28
ФЖЕЛ (%)	110,74±5,33*	86,35±2,02
МОС25 (%)	94,10±10,80*	42,34±2,41
МОС50 (%)	65,88±6,19*	31,88±1,89
МОС75 (%)	35,72±4,50	31,52±2,51
Дельта ОФВ1 (%)	22,65±0,45	28,10±1,84
РС20 (мг/мл)	4,01±3,01*	0,06±0,00
АСТ-тест (балл)	20,40±0,98*	13,85±0,57

Примечания:

*- $p < 0,05$ по сравнению с Группой 2

В качестве триггеров, провоцирующих симптомы астмы, большинство пациентов групп сравнения отметили физическую нагрузку, контакт с холодным воздухом и резкими запахами (Таблица 7). Более 50% больных имели два и более провоцирующих фактора.

Таблица 7

Распределение ведущих триггеров при различной тяжести БА, %

Триггеры	Группа 1 (n=5)	Группа 2 (n=40)
Аллергены	n=3	42,5 (n=17)
Холодный воздух	n=3	62,5 (n=25)
Резкие запахи	n=3	57,5 (n=23)
Физическая нагрузка	n=3	77,5 (n=31)
Инфекции респираторного тракта	n=2	55 (n=22)
Эмоциональное напряжение	n=1	22,5 (n=9)

Среди обследованных больных преобладала пыльцевая и эпидермальная сенсibilизация. В группе пациентов с тяжелой БА на первом месте по распространенности оказалась бытовая сенсibilизация, а у 7,4 % больных наблюдалась грибковая сенсibilизация, отсутствующая у легких пациентов. Поливалентная сенсibilизация отмечалась у 70% тяжелых пациентов.

Таким образом, на момент включения сравниваемые группы были сопоставимы по возрасту, но были неоднородны по гендерному признаку с преобладанием женщин.

Сравниваемые группы различались по показателям, характеризующим клиническое течение БА (количество дневных и ночных симптомов, количество незапланированных визитов к врачу) и объективных параметров контроля (параметры ФВД, тест на БГР, результат АСТ-теста), в соответствии с критериями формирования групп сравнения.

3.2 Динамика клинико-функциональных показателей и уровня контроля в течение периода наблюдения

3.2.1. Группа 1 (легкая персистирующая БА)

В соответствии с требованиями протокола клиническое течение заболевания на момент включения в исследование по критериям контроля GINA2006 расценено как неконтролируемое. На Визите 1 пациентам данной группы назначена регулярная базисная противовоспалительная монотерапия в объеме 250 мкг/сут ФП. На фоне терапии на момент Визита 2 контроля болезни достигли 60% пациентов, а с Визита 3 и до конца периода наблюдения у всех пациентов течение болезни расценивалось как контролируемое.

В течение периода наблюдения на фоне данной терапии наблюдалась положительная динамика клинико-функциональных показателей и уровня контроля болезни. Так, уже через 4 недели терапии к моменту Визита 2 сократилось количество дневных симптомов за последние 7 дней, предшествующих визиту, с $6,00 \pm 1,97$ до $1,26 \pm 0,75$, а к моменту Визита 3 и до

последнего визита пациенты не регистрировали дневных симптомов болезни, данные изменения были статистически значимыми (Таблица 8).

Таблица 8

Динамика клинико-функциональных показателей Группа 1
(легкая персистирующая БА)

Показатель	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
ОФВ1 (%)	99,36±5,57	98,76±6,76	99,70±5,27	94,48±4,93
ПСВ (%)	116,86±5,41	110,82±4,17	113,06±7,37	106,48±3,92
ФЖЕЛ (%)	110,74±5,33	109,40±6,53	111,30±6,20	107,10±4,35
МОС25 (%)	94,10±10,80	97,24±8,92	99,28±10,56	91,02±11,35
МОС50 (%)	65,88±6,19	65,06±8,90	64,44±7,09	62,06±62,06
МОС75 (%)	35,72±4,50	38,90±5,65	36,74±2,60	35,08±3,90
АСТ-тест (балл)	20,40±0,98	23,00±0,71	23,40±0,81	23,20±0,97
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	6,00±1,97*	1,26±0,75*	0*	0*
Среднее кол-во дневных симптомов в день	0,86±0,28*	0,18±0,11*	0*	0*
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	0,80±0,20	1,49±1,49	0	0
Среднее кол-во ночных симптомов	0,11±0,03	0,21±0,21	0	0
Количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней		0	0	0
Среднее количество эпизодов		0	0	0

использования КДБА за последние 7 дней				
Количество бессимптомных дней за последние 28 дней		24,00±0,71	26,25±0,85	27,80±0,20
Количество обострений любой степени тяжести		0	0	0
Среднесуточная проходимость бронхов, %		120,50±8,50	125,00	
PC20 (мг/мл)	4,01±3,01			10,40±2,32

Примечания:

*- $p < 0,05$ – тест Фридмана

Также в течение периода наблюдения зарегистрировано снижение ночных симптомов и увеличение количества бессимптомных дней.

Значительно улучшился контроль болезни по данным оценки с помощью АСТ-теста, который в исследовании использовался как дополнительный инструмент оценки контроля. Также зарегистрирован прирост PC20 с 4,01±3,01 мг/мл на Визите 1 до 10,40±2,32 мг/мл на Визите 4, что может свидетельствовать об уменьшении выраженности воспаления в дыхательных путях. Необходимо отметить, что многие изменения не были статистически достоверными, вероятно, в связи с небольшой выборкой.

Также в течение периода наблюдения не зарегистрировано динамики ОФВ1, это обусловлено тем, что исходно значения данных параметров находились в пределах условных возрастных норм.

3.2.2. Группа 2 (тяжелая БА)

На Визите 1 пациентам данной группы назначена регулярная комбинированная базисная противовоспалительная терапия сальметерол/ФП в объеме 1000 мкг/сут по ФП.

На фоне данной терапии на момент Визита 2 контроля болезни достигли только 15% пациентов, на момент Визита 3 – 45%, а к окончанию периода наблюдения течение болезни расценивалось как контролируемое только у половины пациентов данной группы.

В течение периода наблюдения наблюдалась положительная динамика клинико-функциональных показателей и уровня контроля болезни (Таблица 9). Так, в течение периода наблюдения регистрировалось достоверное снижение количества дневных и ночных симптомов, сокращалась потребность в КДБА, значительно увеличилось количество бессимптомных дней и показатель среднесуточной проходимости бронхов (Таблица 9).

Таблица 9

Динамика клинико-функциональных показателей Группа 2
(тяжелая БА)

Показатель	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
ОФВ1 (%)	65,03±1,43	80,52±2,88 [†]	78,71±3,07	77,19±2,99*
ПСВ (%)	71,18±2,28	83,73±2,85 [†]	82,71±3,32	81,74±3,33*
ФЖЕЛ (%)	86,35±2,02	102,99±2,57 [†]	101,12±2,81	98,42±2,69*
МОС25 (%)	42,34±2,41	55,85±3,39 [†]	55,04±3,90	51,93±3,51 ^{†*}
МОС50 (%)	31,88±1,89	40,12±2,69 [†]	39,39±2,68	37,67±2,65*
МОС75 (%)	31,52±2,51	33,64±2,49	31,70±2,20	30,22±2,05
АСТ-тест (балл)	13,85±0,57	16,88±0,83 [†]	18,82±0,83 [‡]	18,85±0,96*
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	16,90±1,47	7,39±1,24 [†]	4,34±0,99 [‡]	2,89±0,72*

Среднее кол-во дневных симптомов в день	2,41±0,21	1,06±0,18 [†]	0,62±0,14 [¥]	0,41±0,10*
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	3,80±0,64	4,61±0,94	2,18±0,91 [¥]	1,87±0,64*
Среднее кол-во ночных симптомов	0,54±0,09	0,66±0,13	0,31±0,13	0,26±0,09*
Количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней		6,40±2,07	3,11±1,23	2,05±0,78
Среднее количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней		0,91±0,30	0,44±0,18	0,29±0,11
Количество бессимптомных дней за последние 28 дней		9,97±1,73	15,94±1,81 [¥]	17,93±1,54
Количество обострений любой степени тяжести		0,05±0,03	0,08±0,04	0,23±0,08 [£]
Среднесуточная проходимость бронхов, %		86,67±4,09	90,89±4,01	87,31±7,83
РС20 (мг/мл)	0,06±0,00			3,19±0,81 [†]

Примечания:

*- $p < 0,05$ – тест Фридмана

[†] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 1

[¥] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 2

[£] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 3

Установлено статистически достоверное увеличение балла АСТ-теста в течение всего периода наблюдения, однако значений, позволяющих охарактеризовать течение болезни как контролируемое с помощью данного инструмента, достигнуто не было.

Также наблюдалась положительная динамика основных параметров, характеризующих ФВД, хотя и в данном случае значений условных возрастных норм к окончанию периода наблюдения не достигнуто.

К окончанию периода наблюдения зарегистрирован статистически значимый прирост параметра PC20 с $0,06 \pm 0,00$ до $3,19 \pm 0,81$ мг/мл, что может свидетельствовать об уменьшении выраженности воспаления в дыхательных путях.

На фоне положительной динамики большинства показателей в период наблюдения с Визита 3 по Визит 4 (3 месяца) возросло количество обострений. Вероятно, увеличение данного показателя произошло за счет пациентов, не достигших контроля к окончанию периода наблюдения.

3.3 Исходная клиническая характеристика терапевтически чувствительных и терапевтически резистентных пациентов

В соответствии с оценкой эффективности терапии и критериями ATS, по окончании лечебного периода группа пациентов с тяжелой БА апостериорно разделена на терапевтически чувствительных и резистентных пациентов [270].

3.3.1. Исходная клиническая характеристика терапевтически чувствительных пациентов

По результатам оценки эффективности терапии к окончанию периода наблюдения в группу терапевтически чувствительных пациентов включены данные 20 субъектов.

Средний возраст пациентов данной группы составил $47,15 \pm 3,20$ лет. Манифестация симптомов БА зарегистрирована в возрасте $33,30 \pm 3,91$ лет и на

момент включения стаж заболевания составлял $9,75 \pm 1,94$ лет. Исходно пациенты ежедневно регистрировали дневные симптомы заболевания, в среднем около 2 раз в сутки, около трех раз в неделю просыпались из-за симптомов астмы (Таблица 10). В течение последнего года каждый пациент в среднем прибегал к незапланированным визитам к врачу и госпитализации по поводу астмы, а также испытывал потребность в неотложной медицинской помощи в течение последнего года. Зарегистрировано выраженное снижение ОФВ1 ($68,10 \pm 1,89\%$). Тест на обратимость бронхиальной обструкции у всех пациентов был положительным. Подавляющее большинство пациентов имели противопоказания к проведению теста на БГР ($n=18$), однако, у тех пациентов, которым данное исследование было проведено, значение РС20 составило $0,0625$ мг/мл.

Группа была неоднородной по гендерному признаку с преобладанием женщин (OR 3,00; 95% CI 0,80-11,73), однако данные гендерные различия не были статистически достоверными. Также мужчины данной группы были достоверно моложе женщин.

По другим клинико-функциональным характеристикам течения болезни мужчины и женщины, представляющие данную группу, были сопоставимы (Таблица 10).

Таблица 10

Клиническая характеристика группы ТЧБА

Показатель	Всего	Женщины	Мужчины
	n=20	n=15	n=5
Возраст (лет)	$47,15 \pm 3,20$	$51,60 \pm 2,88$	$33,80 \pm 6,94^*$
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	$12,45 \pm 1,51$	$13,87 \pm 1,76$	$8,20 \pm 2,27$
Среднее кол-во дневных симптомов в день	$1,78 \pm 0,22$	$1,98 \pm 0,25$	$1,17 \pm 0,32$
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	$2,55 \pm 0,47$	$2,60 \pm 0,51$	$2,40 \pm 1,25$

Среднее кол-во ночных симптомов	0,36±0,07	0,37±0,07	0,34±0,18
Стаж заболевания (лет)	9,75±1,94	10,07±2,45	8,80±2,92
Возраст манифестации астмы, полных лет	33,30±3,91	37,13±3,63	21,80±10,40
Частота госпитализаций за последние 12 мес.	0,25±0,12	0,27±0,15	0,20±0,20
Частота вызовов скорой помощи за последние 12 мес.	0,15±0,15	0,00±0,00	0,60±0,60
Кол-во визитов к врачу за последние 12 мес.	3,40±1,10	2,33±0,84	6,60±3,49
ОФВ1 (%)	68,10±1,89	66,08±1,99	74,14±3,82
ПСВ (%)	73,84±3,56	70,24±4,05	84,64±5,54
ФЖЕЛ (%)	87,61±2,82	85,77±3,46	93,12±3,82
МОС25 (%)	48,69±3,79	43,97±3,72	62,84±7,82*
МОС50 (%)	36,06±3,05	30,85±2,83	51,68±3,39*
МОС75 (%)	38,33±4,21	31,94±3,58	56,20±8,86*
Дельта ОФВ1 (%)	24,94±1,96	26,95±2,20	18,88±3,23*
РС20 (мг/мл)	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00
АСТ-тест (балл)	15,30±0,58	15,33±0,61	15,20±1,59

Примечания:

* – $p < 0,05$ по сравнению с женщинами

3.3.2. Исходная клиническая характеристика терапевтически резистентных пациентов

По результатам оценки эффективности терапии к окончанию периода наблюдения в группу терапевтически резистентных пациентов включены данные 20 больных.

Средний возраст пациентов данной группы составил $51,40 \pm 2,52$ лет. Манифестация симптомов БА зарегистрирована в возрасте $28,15 \pm 3,78$ лет, и на момент включения стаж заболевания составлял $16,65 \pm 1,88$ лет.

Исходно пациенты ежедневно регистрировали дневные симптомы заболевания, в среднем более трех раз в сутки, пять из семи ночей просыпались из-за симптомов астмы. В течение последнего года пациент прибегал к незапланированным визитам к врачу и госпитализации по поводу астмы, а также испытывал потребность в неотложной медицинской помощи в течение последнего года. По данным оценки показателей ФВД, зарегистрировано выраженное снижение ОФВ1 до $61,97 \pm 1,97\%$. Значение PC20 составило $0,0625$ мг/мл у пациентов, которые не имели противопоказаний к проведению теста на БГР.

Данная группа была также неоднородной по гендерному признаку с преобладанием женщин (OR 4,00; 95% CI 1,00-17,27), однако данные гендерные различия не были статистически достоверными.

По другим клинико-функциональным характеристикам течения болезни мужчины и женщины, представляющие данную группу, были сопоставимы (Таблица 11).

Таблица 11

Клиническая характеристика группы ТРБА

Показатель	Всего	Женщины	Мужчины
	n=20	n=16	n=4
Возраст (лет)	$51,40 \pm 2,52$	$52,56 \pm 2,18$	$46,75 \pm 9,84$
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	$21,35 \pm 2,13$	$21,44 \pm 2,47$	$21,00 \pm 4,65$
Среднее кол-во дневных симптомов в день	$3,05 \pm 0,30$	$3,06 \pm 0,35$	$3,00 \pm 0,66$
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	$5,05 \pm 1,15$	$5,56 \pm 1,34$	$3,00 \pm 1,91$

Среднее кол-во ночных симптомов	0,72±0,16	0,79±0,19	0,43±0,27
Стаж заболевания (лет)	16,65±1,88	16,88±2,32	15,75±1,93
Возраст манифестации астмы, полных лет	28,15±3,78	27,50±4,02	30,75±11,17
Частота госпитализаций за последние 12 мес.	0,25±0,12	0,19±0,10	0,50±0,50
Частота вызовов скорой помощи за последние 12 мес.	2,60±1,23	1,94±1,02	5,25±4,92
Кол-во визитов к врачу за последние 12 мес.	2,95±0,96	3,63±1,14	0,25±0,25
ОФВ1 (%)	61,97±1,97	63,17±2,18	57,18±4,20
ПСВ (%)	68,51±2,82	68,17±3,20	69,88±6,88
ФЖЕЛ (%)	85,10±2,95	87,72±3,34	74,63±2,53*
МОС25 (%)	35,99±2,29	37,34±2,74	30,60±1,95
МОС50 (%)	27,71±1,86	27,72±2,14	27,65±4,30
МОС75 (%)	25,05±2,02	24,80±1,79	26,03±8,05
Дельта ОФВ1 (%)	31,27±2,99	32,31±3,51	27,13±5,32
РС20 (мг/мл)	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00
АСТ-тест (балл)	12,40±0,89	11,94±1,07	14,25±0,75

Примечания:

* – $p < 0,05$ по сравнению с женщинами

3.3.3. Сравнительная клиническая характеристика терапевтически чувствительных и терапевтически резистентных пациентов

Так как клинические группы терапевтически чувствительных и резистентных пациентов в данном исследовании формировались на основе оценки эффективности фармакотерапии астмы в течение периода наблюдения, то сформированные группы статистически достоверно различались по ключевым

параметрам течения болезни (Таблица 12). Однако по гендерному составу и возрасту данные группы были сопоставимы.

Таблица 12

Сравнительная клиническая характеристика групп ТЧБА и ТРБА

Показатель	ТЧБА	ТРБА
	n=20	n=20
Возраст (лет)	47,15±3,20	51,40±2,52
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	12,45±1,51	21,35±2,13*
Среднее кол-во дневных симптомов в день	1,78±0,22	3,05±0,30*
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	2,55±0,47	5,05±1,15
Среднее кол-во ночных симптомов	0,36±0,07	0,72±0,16
Стаж заболевания (лет)	9,75±1,94	16,65±1,88*
Возраст манифестации астмы, полных лет	33,30±3,91	28,15±3,78
Частота госпитализаций за последние 12 мес.	0,25±0,12	0,25±0,12
Частота вызовов скорой помощи за последние 12 мес.	0,15±0,15	2,60±1,23*
Кол-во визитов к врачу за последние 12 мес.	3,40±1,10	2,95±0,96
ОФВ1 (%)	68,10±1,89	61,97±1,97*
ПСВ (%)	73,84±3,56	68,51±2,82
ФЖЕЛ (%)	87,61±2,82	85,10±2,95
МОС25 (%)	48,69±3,79	35,99±2,29*
МОС50 (%)	36,06±3,05	27,71±1,86*
МОС75 (%)	38,33±4,21	25,05±2,02*
Дельта ОФВ1 (%)	24,94±1,96	31,27±2,99
РС20 (мг/мл)	0,06±0,00	0,06±0,00
АСТ-тест (балл)	15,30±0,58	12,40±0,89*

Примечания:

*- $p < 0,05$

Исходно в группе ТРБА зарегистрированы более худшие клинические и функциональные параметры течения БА. Так резистентные пациенты регистрировали дневные симптомы практически в два раза чаще, чем чувствительные пациенты ($12,45 \pm 1,51$ vs $21,35 \pm 2,13$, $p < 0,05$), значительно чаще испытывали потребность в неотложной медицинской помощи ($0,15 \pm 0,15$ vs $2,60 \pm 1,23$, $p < 0,05$) и имели более низкие значения ОФВ1 ($68,10 \pm 1,89$ vs $61,97 \pm 1,97$, $p < 0,05$). Также исходно резистентные пациенты имели более низкий балл АСТ-теста ($15,30 \pm 0,58$ vs $12,40 \pm 0,89$, $p < 0,05$).

Необходимо отметить, что у терапевтически резистентных пациентов стаж заболевания практически в два раза превосходил аналогичный показатель в сравнении с чувствительными к терапии пациентами ($9,75 \pm 1,94$ vs $16,65 \pm 1,88$, $p < 0,05$).

В качестве триггеров, провоцирующих симптомы астмы, большинство пациентов отметили физическую нагрузку, контакт с холодным воздухом и резкими запахами (Таблица 13). Более 50% больных имели 2 и более провоцирующих фактора. При этом установлено, что на физическую нагрузку как триггер указывали достоверно чаще пациенты ТРБА.

Таблица 13

Распределение ведущих триггеров, (n)

Триггеры	ТЧБА (n=20)	ТРБА (n=20)
Аллергены	n=10	n=7
Холодный воздух	n=13	n=12
Резкие запахи	n=10	n=13
Физическая нагрузка	n=12	n=19*
Инфекции респираторного тракта	n=10	n=12
Эмоциональное напряжение	n=3	n=6

Примечание:

* – $p < 0,05$

Анализ структуры сенсibilизации показал отсутствие значимых различий между сравниваемыми группами.

При изучении семейного анамнеза у 70% (n=14) больных тяжелой ТЧБА отмечена отягощенная наследственность по астме и атопии, из которых у 50% (n=7) – по линии матери. В группе ТРБА наследственность была отягощена у 50% (n=10), при этом у 80% (n=8) – по линии отца.

У 15 пациентов тяжелой БА наблюдались другие клинические проявления атопии (Таблица 14).

Таблица 14

Коморбидная патология, количество случаев (n)

Нозология	ТЧБА (n=20)	ТРБА (n=20)
Аллергический ринит	6	5
Крапивница	1	1
Отек Квинке	1	1
Непереносимость НПВС	3	2

Большинство пациентов (n=11) страдало круглогодичным аллергическим ринитом (n=6 в группе ТЧБА и n=5 в группе ТРБА), у 2 пациентов отмечен отек Квинке в анамнезе (по 1 представителю в каждой группе), крапивница наблюдалась также у 2 больных. Кроме того, 5 представителей группы ТЧБА имели сочетание вышеперечисленных нозологий (Таблица 14). Лекарственная непереносимость (НПВС) в анамнезе отмечена у 5 пациентов тяжелой БА.

3.4. Динамика клинико-функциональных показателей и уровня контроля в течение периода наблюдения

3.4.1. Группа ТЧБА

Отличительной особенностью группы пациентов с тяжелой чувствительной к терапии астмой было статистически значимое улучшение основных клинико-функциональных показателей уже к моменту визита 2 (спустя 4 недели от начала базисной противовоспалительной терапии в объеме, соответствующем степени тяжести БА по рекомендациям GINA) и сохранение положительной динамики на фоне продолжающейся терапии к окончанию исследования (Таблица 15).

Таблица 15

Динамика клинико-функциональных показателей группы ТЧБА

Показатель	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
ОФВ1 (%)	68,10±1,89	91,44±3,84 [†]	92,23±3,17	90,82±2,87*
ПСВ (%)	73,84±3,56	90,91±3,65 [†]	93,42±3,84	93,75±3,82*
ФЖЕЛ (%)	87,61±2,82	109,64±3,48 [†]	110,13±3,29	107,61±2,92*
МОС25 (%)	48,69±3,79	69,22±3,88 [†]	73,52±4,27	69,31±3,69*
МОС50 (%)	36,06±3,05	50,82±3,74 [†]	52,29±2,88	50,04±3,13*
МОС75 (%)	38,33±4,21	41,05±4,23	39,89±3,07	37,21±3,16 [‡]
АСТ-тест (балл)	15,30±0,58	20,20±0,73 [†]	22,47±0,50 [¥]	23,05±0,52 ^{‡*}
Кол-во дневных симптомов за последние 7 дней	12,45±1,51	2,60±0,91 [†]	0,55±0,30 [¥]	0,26±0,10*
Среднее кол-во дневных симптомов в день	1,78±0,22	0,37±0,13 [†]	0,08±0,04 [¥]	0,04±0,01*
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	2,55±0,47	2,26±0,81	0,38±0,22 [¥]	0,05±0,05*
Среднее кол-во	0,36±0,07	0,32±0,12	0,05±0,03 [¥]	0,01±0,01*

НОЧНЫХ СИМПТОМОВ				
Количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней		1,17±0,59	0	0
Среднее количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней		0,17±0,08	0	0
Количество бессимптомных дней за последние 28 дней		16,89±2,20	24,83±0,94 [¥]	25,95±0,46
Количество обострений любой степени тяжести		0	0	0
Среднесуточная проходимость бронхов, %		92,19±4,96	95,52±4,50	80,10
РС20 (мг/мл)	0,06±0,00			6,42±1,27 [†]

Примечания:

*- $p < 0,05$ – тест Фридмана

[†] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 1

[¥] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 2

[£] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 3

Так, показатели количества дневных и ночных симптомов, оцениваемые по дневнику самоконтроля, к моменту визита 4, спустя 24 недели от начала терапии, были статистически ниже исходного уровня, а основные изучаемые функциональные параметры проходимости бронхов (по данным выполнения спирометрии) достоверно повысились на фоне проводимой терапии. Показатель БГР в тесте с метахолином в группе тяжелых больных, чувствительных к терапии,

достоверно снизился к окончанию лечебного периода (РС20, $0,06 \pm 0,00$ vs $6,42 \pm 1,27$, $p < 0,05$). По результатам заполнения валидизированного опросника АСТ-тест, практически все пациенты группы ТЧБА оценили контроль над заболеванием как «хороший» (>20 баллов по результатам АСТ-теста).

3.4.2. Группа ТРБА

Для данной группы пациентов был характерен незначительный начальный положительный эффект от проводимой терапии. Так, к моменту визита 2 (через 4 недели от начала лечения в соответствии с рекомендациями GINA), статистически значимо улучшились такие показатели как количество дневных симптомов, ОФВ1, ПСВ и ФЖЕЛ, однако в дальнейшем данная положительная динамика практически отсутствовала. К моменту окончания исследования статистически значимые отличия от исходных показателей наблюдались по таким параметрам как количество дневных и ночных симптомов, уровень контроля БА по результатам заполнения АСТ-теста и ОФВ1. Показатель БГР в тесте с метахолином при сравнении значений, полученных на Визите 1 и Визите 4, достоверно не изменился (Таблица 16).

Таблица 16

Динамика клинико-функциональных показателей группы ТРБА

Показатель	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
ОФВ1 (%)	$61,97 \pm 1,97$	$69,61 \pm 2,59^\dagger$	$65,18 \pm 2,91$	$63,57 \pm 3,00^*$
ПСВ (%)	$68,51 \pm 2,82$	$76,55 \pm 3,84^\dagger$	$72,00 \pm 4,22$	$69,73 \pm 3,97^*$
ФЖЕЛ (%)	$85,10 \pm 2,95$	$96,34 \pm 3,20^\dagger$	$92,12 \pm 3,54$	$89,23 \pm 3,52^*$
МОС25 (%)	$35,99 \pm 2,29$	$42,49 \pm 3,64$	$36,57 \pm 2,55$	$34,55 \pm 2,28$
МОС50 (%)	$27,71 \pm 1,86$	$29,42 \pm 1,92$	$26,49 \pm 1,66$	$25,30 \pm 1,73$
МОС75 (%)	$25,05 \pm 2,02$	$26,23 \pm 1,32$	$23,51 \pm 1,74$	$23,23 \pm 1,43$
АСТ-тест (балл)	$12,40 \pm 0,89$	$13,55 \pm 1,06$	$15,16 \pm 1,06$	$14,65 \pm 1,28^*$
Кол-во дневных симптомов за	$21,35 \pm 2,13$	$11,93 \pm 1,71^\dagger$	$7,93 \pm 1,48$	$5,53 \pm 1,17^*$

последние 7 дней				
Среднее кол-во дневных симптомов в день	3,05±0,30	1,70±0,24 [†]	1,13±0,21	0,79±0,17*
Кол-во ночных симптомов за последние 7 дней	5,05±1,15	6,84±1,52	3,79±1,63	3,68±1,15*
Среднее кол-во ночных симптомов	0,72±0,16	0,98±0,22	0,54±0,23	0,52±0,16*
Количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней		11,33±3,66	6,22±2,23	4,22±1,46
Среднее количество эпизодов использования КДБА за последние 7 дней		1,62±0,52	0,89±0,32	0,60±0,21
Количество бессимптомных дней за последние 28 дней		3,05±1,45	7,06±1,80 [¥]	9,90±1,65
Количество обострений любой степени тяжести		0,10±0,07	0,16±0,09	0,45±0,15 [£]
Среднесуточная проходимость бронхов, %		83,42±5,76	87,91±5,92	88,03±8,62
РС20 (мг/мл)	0,06±0,00			0,14±0,05

Примечания:

*- $p < 0,05$ – тест Фридмана

[†] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 1

[¥] - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 2

£ - $p < 0,05$ – по сравнению с Визитом 3

3.4.3. Сравнительная оценка динамики клинико-функциональных показателей и уровня контроля в течение периода наблюдения

Сравнительный анализ динамики клинико-функциональных показателей и уровня контроля болезни в течение периода наблюдения у терапевтически чувствительных и резистентных пациентов продемонстрировал, что в группе ТЧБА статистически значимое улучшение основных клинико-функциональных показателей было зарегистрировано к моменту Визита 2 и в дальнейшем положительная динамика сохранялась. При этом к окончанию периода наблюдения значения ОФВ1 достигли условных возрастных норм, а проявление клинических симптомов было минимальным (Рисунок 2, 3, 4).

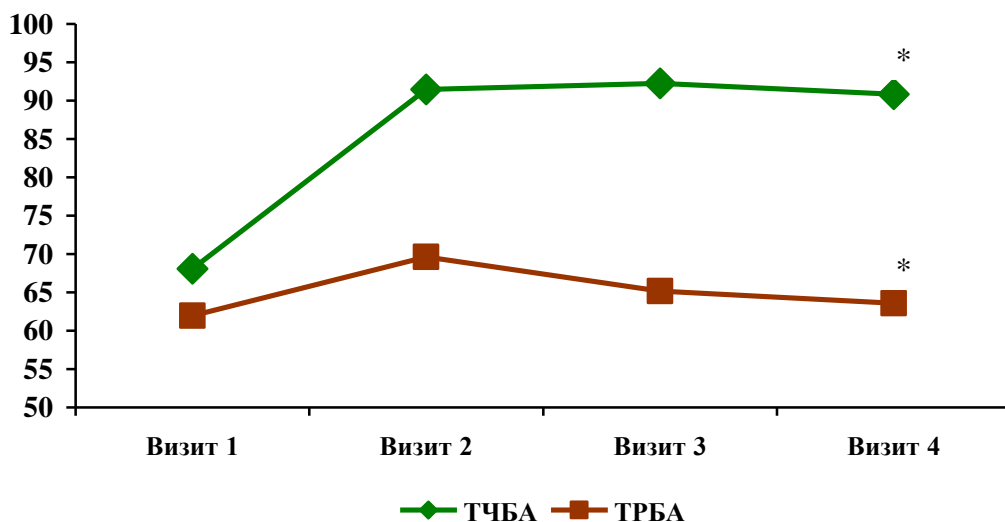


Рисунок 2. Динамика ОФВ1 в течение периода наблюдения (24 недели)

Примечания:

*- $p < 0,05$ – тест Фридмана

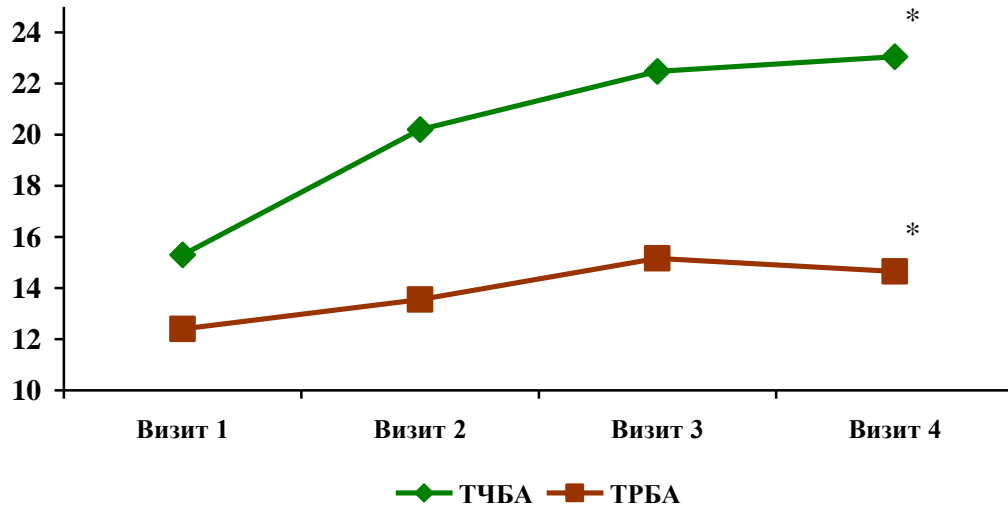


Рисунок 3. Динамика балла АСТ в течение периода наблюдения (24 недели)

Примечания:

*- $p < 0,05$ – тест Фридмана

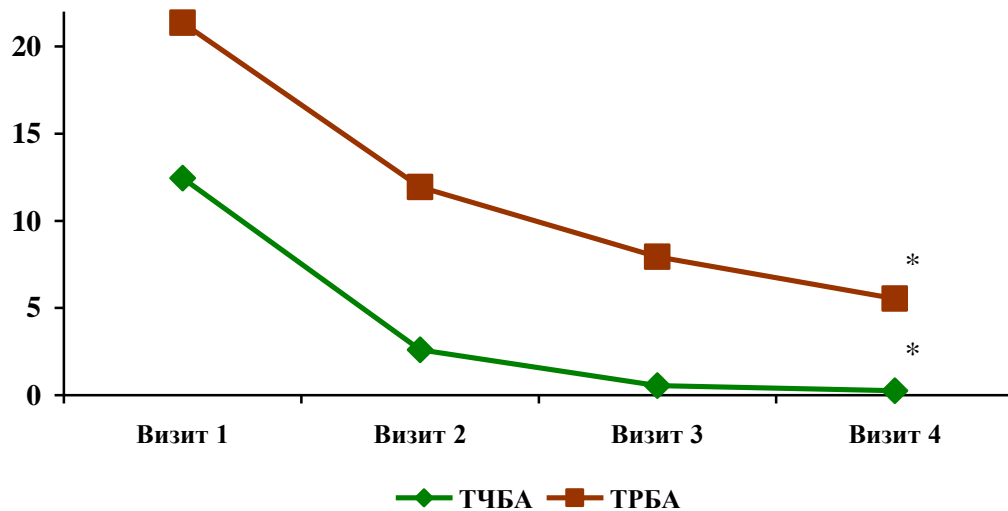


Рисунок 4. Динамика количества симптомов за последние 7 дней, предшествующих визиту течение периода наблюдения (24 недели)

Примечания:

*- $p < 0,05$ – тест Фридмана

В группе ТРБА, напротив, в течение первых четырех недель лечебного периода зарегистрирована наибольшая динамика клинико-функциональных

показателей и уровня контроля, а в последующий период динамика хоть и была положительной, но носила менее выраженный характер.

По параметрам безопасности (количество НЯ и СНЯ) сравниваемые группы достоверно не различались.

При обсуждении данных результатов необходимо учитывать, что формирование данных групп в соответствии с дизайном исследования было апостериорным, и изначально пациенты, распределенные в группу ТРБА, имели признаки более тяжелого течения заболевания в сравнении с представителями группы ТЧБА.

Резюме

1. По результатам проведенного исследования половина пациентов тяжелой БА имеет неконтролируемое течение болезни и по окончании лечебного периода продолжительностью 6 месяцев соответствует критериям терапевтической резистентности.
2. В группе ТРБА исходно были зарегистрированы более худшие клинические и функциональные параметры течения БА в сравнении с чувствительными к терапии пациентами.
3. По другим параметрам, таким как структура сенсibilизации, сопутствующие атопические состояния, наследственность и структура сопутствующей патологии группы чувствительной и резистентной астмы достоверно не различались.
4. Сформирована репрезентативная выборка для выполнения полногеномного исследования тяжелой ТРБА, которое позволит оценить динамику профилей экспрессии генов на фоне базисной противовоспалительной терапии у пациентов с различной степенью тяжести БА.

Глава 4. Оценка дифференциальной экспрессии генов

Для проведения оценки дифференциальной экспрессии генов на репрезентативной для проведения генетического исследования выборке пациентов определен глобальный уровень экспрессии генов с помощью микрочипа Affymetrix, содержащего пробы для 28 875 генов.

Для построения перечня генов с дифференциальной экспрессией значение $p < 0,05$ после поправки на множественные сравнения расценивали как статистически значимое в любом из трех сравниваемых контрастов.

Проведен анализ образцов РНК 20 пациентов с тяжелой ТЧБА, 20 пациентов с ТРБА и 5 пациентов с легкой астмой.

4.1 Дифференциальная экспрессия генов на Визите 1

Анализ транскриптома образцов, полученных на Визите 1, идентифицировал 1388 генов, экспрессия которых статистически значимо отличалась между сравниваемыми группами.

Согласно полученным данным, наибольшее число генов со специфичной дифференциальной экспрессией зарегистрировано между тяжелой терапевтически резистентной и легкой персистирующей БА ($n=1201$). Значительно меньшее количество генов со специфичной экспрессией зарегистрировано при сравнении ТЧБА и ТРБА ($n=18$), а также ТЧБА и легкой БА ($n=49$).

Для 43 генов установлены различия в уровне экспрессии одновременно при сравнении ТЧБА и ТРБА, а также тяжелой резистентной и легкой БА. Таким образом, ТРБА специфическим образом характеризуется отличием в уровне экспрессии 43 генов от других исследованных групп. Также по результатам проведенного анализа установлено, что тяжелая терапевтически чувствительная и легкая персистирующая астма характеризуются отличием в уровне экспрессии 22 и 55 генов соответственно (Рисунок 5).

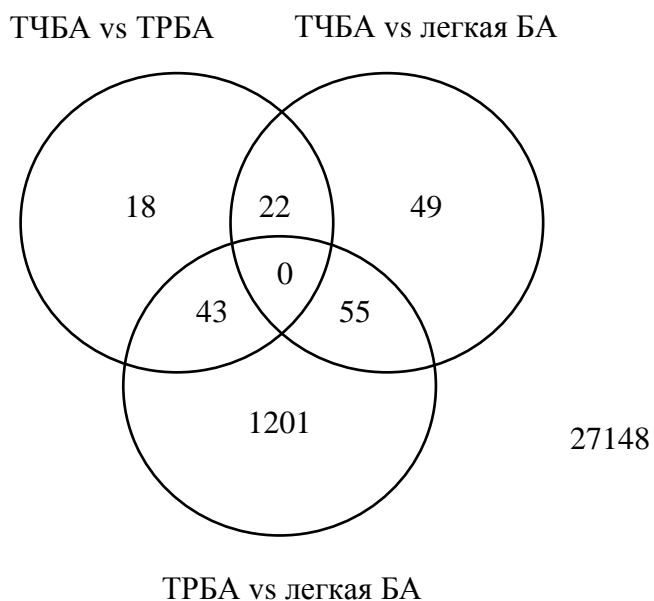


Рисунок 5. Количество генов с отличающейся экспрессией на Визите 1 ($p < 0,05$)

В результате проведенного статистического анализа определен перечень из 440 генов, экспрессия которых статистически значимо выше в одной или нескольких сравниваемых группах (Рисунок 6).

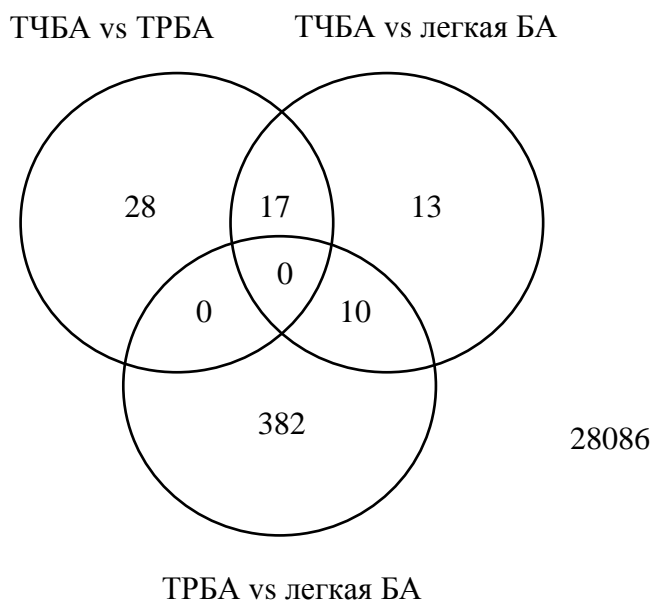


Рисунок 6. Количество генов с повышенной экспрессией на Визите 1 ($p < 0,05$)

У больных ТРБА по сравнению с легкой персистирующей астмой установлено 392 гена с повышенным уровнем экспрессии, в том числе 382 с

отличиями в уровне экспрессии только для этих групп сравнения. Значительно меньшее количество генов со специфичной экспрессией зарегистрировано при сравнении больных тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмой ($n=28$), а также тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА ($n=13$) - Рисунок 6.

Для 17 генов установлен повышенный уровень экспрессии у больных ТЧБА по сравнению с таковым у больных ТРБА и легкой БА. Для 10 генов показан повышенный уровень экспрессии у больных обеими формами тяжелой астмой по сравнению с пациентами, страдающими легкой БА (Рисунок 6).

Анализ транскриптома также идентифицировал 981 ген, экспрессия которых статистически значимо снижена в одной или нескольких сравниваемых группах (Рисунок 7).

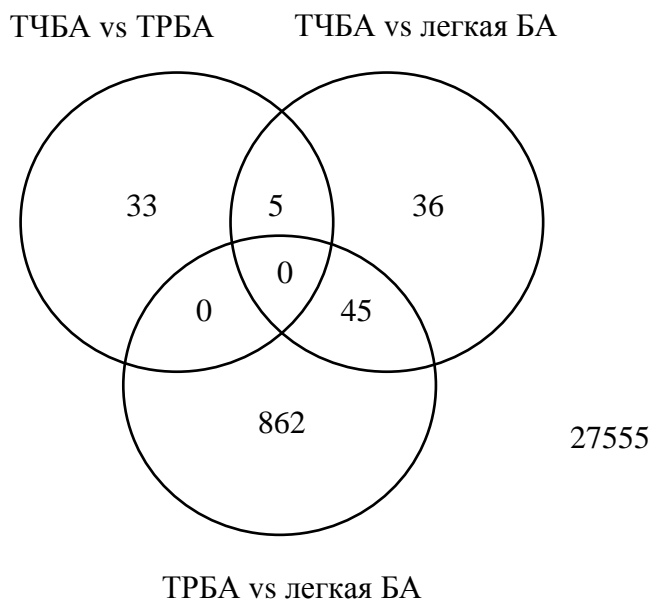


Рисунок 7. Количество генов со сниженной экспрессией на Визите 1 ($p<0,05$)

Наибольшее число генов со сниженной экспрессией зарегистрировано при сравнении тяжелой терапевтически резистентной и легкой персистирующей БА ($n=907$, в том числе 862 – с отличиями в уровне экспрессии только для этих групп сравнения). Значительно меньшее количество генов со специфичной сниженной экспрессией зарегистрировано для тяжелой терапевтически чувствительной по

сравнению с резистентной БА (n=33), а также тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА (n=36) – Рисунок 7.

Для пяти генов уровень экспрессии был ниже у больных ТЧБА по сравнению с таковым для пациентов из других групп сравнения. Для 45 генов уровень экспрессии статистически значимо ниже у больных обеими формами тяжелой БА по сравнению с легкой формой астмы (Рисунок 7).

4.1.1 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА

Статистически значимые отличия в уровне экспрессии при сравнении больных тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА установлены для 126 генов; их распределение в зависимости от уровня значимости и степени различия в экспрессии представлено в таблице 17. Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p < 0,01$ и любым значением FC (fold-change) приведен в Приложении А (Таблица А.1).

Таблица 17

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с ТЧБА и легкой БА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
Любое изменение	126	51	19
в 2 и более раза	65	40	19
в 5 и более раз	17	13	10

В перечень генов с высоким уровнем достоверной вероятности, характеризующихся различием в уровне экспрессии в сравниваемых группах, вошли гены, функция которых может иметь отношение к механизмам развития астмы (Таблица 18).

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у
больных ТЧБА и легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	17,30	<0,00001
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	6,26	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	12,19	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	15,67	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	22,77	<0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	26,71	<0,00001
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	9,66	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	21,79	0,00002
7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,38	0,00002
8105908	OCLN /// LOC647859	occludin /// occludin pseudogene	0,23	0,00002
8107044	ERAP2	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	0,26	0,00002
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	10,40	0,00002
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	3,05	0,00004
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	3,22	0,00012
7945371	IFITM3	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)	0,19	0,00027
8176384	ZFY	zinc finger protein, Y-linked	3,85	0,00027
8031398	NLRP2	NLR family, pyrin domain containing 2	0,37	0,00029
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,25	0,00029
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	3,00	0,00067
8030366	RPL13A /// SNORD35A	ribosomal protein L13a /// small nucleolar RNA, C/D box 35A	0,20	0,00106

Так, ген *USP9Y* является обязательным компонентом сигнального каскада трансформирующего фактора роста бета и костного морфогенетического белка, который вовлечен в различные фундаментальные клеточные процессы, и его дисрегуляция приводит к нарушениям многих молекулярных механизмов, включая изменение синтеза ИЛ, ИФН- γ , ФНО- α и других [161]. Экспрессия

данного гена, по результатам настоящего исследования, увеличена более чем в 12 раз в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой ($p < 0,00001$).

Еще одним геном, функция которого может иметь отношение к патогенезу астмы является ген *NLRP2*, который кодирует протеины, участвующие в активации рецепторами TLR каспазы-1, а также вовлеченные в белковые комплексы, активирующие провоспалительные каспазы [336]. Наряду с этим, белки данного семейства подавляют активность гена ТФ NF-κB (*NFKB1*), индуцированную ФНО и CD40. Необходимо отметить, что NF-κB является фактором, ассоциированным с активностью воспаления при БА и влияет на различные гены, задействованные в иммунном, острофазовом и воспалительном ответах [99]. В данном исследовании установлено, что экспрессия гена *NLRP2* снижена более чем в 2,5 раза в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой ($p = 0,00029$).

Вероятная ассоциация с БА продемонстрирована для гена *IFITM3*, который кодирует интерферон-индуцированный протеин, участвующий в противовирусном клеточном иммунитете как минимум к трем патогенам человека, посредством прерывания ранних стадий репликации [175]. Экспрессия гена *IFITM3* снижена более чем в пять раз в группе ТЧБА в сравнении с легкой БА ($p = 0,00027$). Таким образом, недостаточная активность данного гена гипотетически может способствовать колонизации дыхательных путей инфекционными агентами (в том числе *Mycoplasma pneumoniae*) и служить предиктором неконтролируемого течения заболевания и формирования терапевтической резистентности [313].

Можно выделить и ген *GSTM*, кодирующий глутатион S-трансферазу, основной функцией, которой является детоксикация лекарственных препаратов, токсинов окружающей среды и продуктов оксидативного стресса посредством конъюгации с глутатионом. Этот ген расположен в высокополиморфном кластере хромосомы 1p13.3. В связи с этим генетическая вариабельность гена *GSTM1* может вносить вклад в токсичность и эффективность лекарственных препаратов, в том числе и препаратов, относящихся к базисной противовоспалительной

терапии астмы [160]. Экспрессия гена *GSTM1* увеличена в три раза в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой ($p=0,00067$).

4.1.2 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА

При сравнении групп тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмы был также определен перечень генов с дифференциальной экспрессией (Таблица 19). Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p<0,01$ и любым значением FC приведен в Приложении А (Таблица А.2).

Таблица 19

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с ТЧБА и ТРБА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	$p<0,05$	$p<0,01$	$p<0,001$
Любое изменение	83	40	22
в 2 и более раза	46	35	22
в 5 и более раз	10	10	9

В перечень генов, которые в данных контрастах характеризуются дифференциальной экспрессией с высоким уровнем достоверной вероятности, вошли гены, функция которых может иметь отношение к патогенезу астмы (Таблица 20).

Таблица 20

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	17,84	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	14,99	<0,00001
8165646	NC_001807	NC_001807	2,74	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	10,73	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	20,00	0,00001
8112376	CENPK	centromere protein K	5,76	0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	21,47	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	24,18	0,00001
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	0,31	0,00003
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	8,09	0,00004
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	9,22	0,00010
7950447	XRRA1 /// RNF169	X-ray radiation resistance associated 1 /// ring finger protein 169	0,45	0,00019
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	3,69	0,00028
8093950	S100P	S100 calcium binding protein P	0,33	0,00033
8039236	LILRA5	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 5	0,38	0,00047
8043043	DNAH6	dynein, axonemal, heavy chain 6	0,45	0,00063
7953291	CD9	CD9 molecule	0,34	0,00073
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	0,26	0,00073
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	2,60	0,00073
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,11	0,00073

Функция гена *USP9Y* была описана выше. По результатам данного исследования экспрессия данного гена увеличена более чем в 10 раз в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА ($p < 0,00001$).

К генам, функция которых может иметь отношение к патогенезу астмы можно отнести ген *LILRA5*, который кодирует протеин, принадлежащий к семейству лейкоцитарных иммуноглобулин-подобных рецепторов. Эффект данных рецепторов заключается в активации и ингибировании функции лейкоцитов. Показано, что присутствие данного протеина на поверхности моноцитов приводит к секреции нескольких провоспалительных цитокинов, что

доказывает его роль в активации иммунного ответа [53, 348]. Данный ген расположен в кластере хромосомы 19q13.4. В настоящее время описаны 4 изоформы данного рецептора. Экспрессия данного гена снижена более чем в 2,5 раза в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА ($p=0,00047$), что может свидетельствовать о наличии паттерна повышения активации провоспалительных цитокинов при резистентной форме болезни.

Также к генам с вероятной ассоциацией с БА можно отнести ген *HLA-DQB1*, кодирующий белок, который связывается с пептидами антигена, что способствует процессингу, презентации и распознаванию CD4 Т-клетками. Данный ген является участником многих сигнальных каскадов иммунного ответа [226]. Доказана ассоциация полиморфизмов генов *HLA-DQA1*, *-DQB1* с предрасположенностью к астме [280]. Экспрессия данного гена снижена почти в 4 раза в группе ТЧБА в сравнении с терапевтически резистентной формой болезни ($p=0,00073$).

4.1.3 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных тяжелой терапевтически резистентной и легкой БА

Для групп ТРБА и легкой астмы в данной работе также определен перечень генов с дифференциальной экспрессией (Таблица 21). Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p<0,01$ и любым значением FC приведен в Приложении А (Таблица А.3).

Таблица 21

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с ТРБА и легкой БА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	$p<0,05$	$p<0,01$	$p<0,001$
Любое изменение	1299	287	40
в 2 и более раза	176	94	30

в 5 и более раз	1	1	1
-----------------	---	---	---

В перечень генов, которые в данных контрастах характеризуются дифференциальной экспрессией с высоким уровнем доверительной вероятности, вошли гены, функция которых может иметь отношение к патогенезу астмы (Таблица 22).

Таблица 22

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у больных ТРБА и легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8165646	NC_001807	NC_001807	0,33	<0,00001
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	0,44	0,00005
8016285	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC646043 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// nucleosome-remodeling factor subunit BPTF-like /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,39	0,00006
8016300	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,38	0,00006
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	3,62	0,00006
8119223	FLJ45825	hypothetical protein LOC646888	0,17	0,00006
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	2,93	0,00006
8009243	C17orf60	chromosome 17 open reading frame 60	2,24	0,00007
7940717	SLC3A2	solute carrier family 3 (activators of dibasic and neutral amino acid transport), member 2	0,51	0,00012
8104139	LOC389834	ankyrin repeat domain 57 pseudogene	0,35	0,00015
7920594	PYGO2	pygopus homolog 2 (Drosophila)	0,50	0,00015
8076826	C22orf34	chromosome 22 open reading frame 34	0,43	0,00015
8079993	CYB561D2 /// NPRL2	cytochrome b-561 domain containing 2 /// nitrogen permease regulator-like 2 (S. cerevisiae)	0,55	0,00018
7994541	LAT /// SPNS1	linker for activation of T cells /// spinster homolog 1 (Drosophila)	0,49	0,00020
7933772	ANK3	ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	0,41	0,00025
7987145	FMN1	formin 1	0,28	0,00025

8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,46	0,00026
8170834	TKTL1	transketolase-like 1	2,04	0,00026
8055183	SMPD4	sphingomyelin phosphodiesterase 4, neutral membrane (neutral sphingomyelinase-3)	0,48	0,00032
8007794	NBR2 /// ARL17A /// ARL17B	neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B	0,41	0,00032

Так, к этой группе можно отнести ген *C17orf60*, кодирующий иммуноглобулин-подобный рецептор, который ингибирует дегрануляцию и активацию тучных клеток и подавляет реакцию гиперчувствительности первого типа [55]. Экспрессия данного гена была увеличена более чем в два раза в группе ТРБА в сравнении с легкой БА ($p=0,00007$).

К генам с вероятной ассоциацией с БА можно отнести ген *LAT*, который необходим для синтеза рецептора антигена Т-клеток и является медиатором сигналинга в процессе созревания Т-клеток и функции НК и тучных клеток [199]. В настоящее время считается доказанным, что нарушения в экспрессии мРНК данного гена вовлечены в механизмы астмы [326]. В рамках данного исследования экспрессия гена снижена более чем в два раза в группе ТРБА в сравнении с легкой БА ($p=0,00020$).

Ген *CCR4* относится к группе генов с вероятной патогенетической ассоциацией с БА. Протеин, кодируемый геном *CCR4*, принадлежит к семейству рецепторов G-связанных белков, которые являются медиаторами регуляции функции хемокинов, играющих фундаментальную роль в созревании клеток, поддержании гомеостаза и функции иммунной системы. Во многих исследованиях показана ассоциация экспрессии *CCR4* с уровнем экспрессии провоспалительных цитокинов при БА [176, 320]. На модели БА у мышей блокада данных рецепторов приводит к уменьшению клинических проявлений астмы [87]. В данном исследовании экспрессия этого гена снижена более чем в два раза в группе ТРБА в сравнении с легкой БА ($p=0,00026$).

Геном с доказанной и широко описанной ассоциацией с астмой является ген *GATA3*, кодирующий одноименный ТФ, который является ключевым регулятором

дифференцировки CD4 T-клеток в Th2-клетки. Кроме прямого влияния на дифференцировку Th2 клеток и экспрессию провоспалительных цитокинов Th2 ряда, GATA-3 оказывает влияние на такие компоненты клинического течения астмы, как БГР и ремоделирование стенки бронха [104, 58, 141]. В данном исследовании экспрессия данного гена снижена почти в два раза в группе ТРБА в сравнении с легкой БА ($p=0,00112$).

4.2 Дифференциальная экспрессия генов на Визите 3 (12 недель терапии)

Анализ транскриптома образцов, полученных на Визите 3, идентифицировал 71 ген, экспрессия которых статистически значимо различалась между сравниваемыми группами, что значительно меньше в сравнении с аналогичным параметром, зарегистрированным на Визите 1.

Согласно полученным данным, наибольшее число генов со специфичной дифференциальной экспрессией зарегистрировано при сравнении пациентов с тяжелой терапевтически резистентной и тяжелой чувствительной БА ($n=39$). Значительно меньшее число генов с дифференциальной экспрессией зарегистрировано при сравнении пациентов с ТЧБА и легкой БА ($n=11$), а также терапевтически резистентной и легкой астмой ($n=4$).

Для четырех генов показано различие в уровне экспрессии при сравнении больных ТРБА с больными других групп. Таким образом, на Визите 3 группа ТРБА специфическим образом характеризуется отличием в уровне экспрессии 4 генов. Также установлено, что тяжелая терапевтически чувствительная и легкая персистирующая астма характеризуются специфическим отличием в уровне экспрессии 12 и 1 гена соответственно (Рисунок 8).

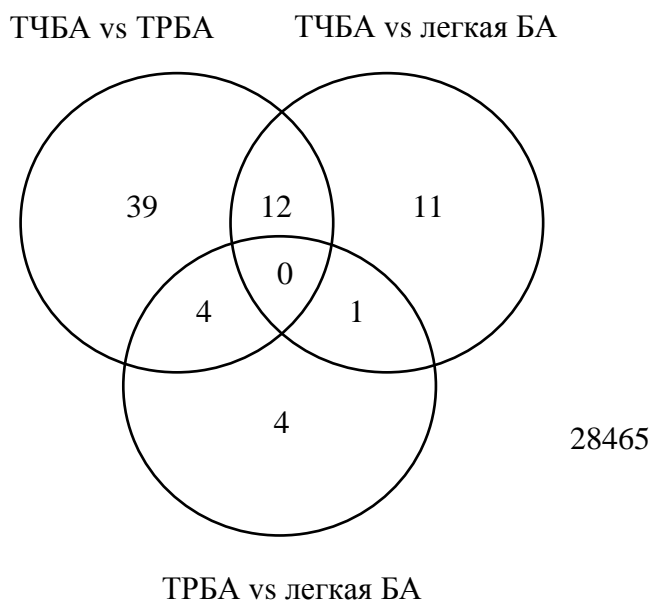


Рисунок 8. Количество генов с отличающейся экспрессией на Визите 3 ($p < 0,05$)

В рамках проведенного статистического анализа определены 45 генов, экспрессия которых на Визите 3 статистически значимо выше в одной или нескольких сравниваемых группах (Рисунок 9).

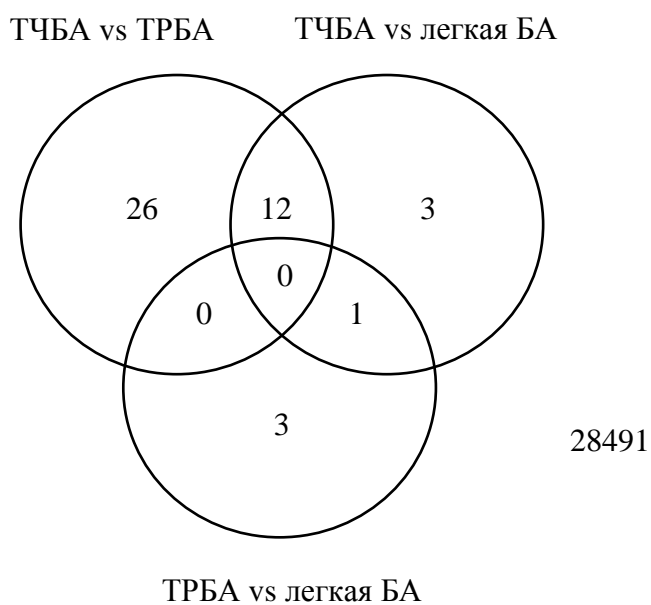


Рисунок 9. Количество генов с повышенной экспрессией на Визите 3 ($p < 0,05$)

У больных ТЧБА по сравнению с резистентной формой болезни установлено 38 генов с повышенным уровнем экспрессии, в том числе 26 генов – специфичных для этих сравниваемых групп. Значительно меньшее количество генов со специфичной повышенной экспрессией зарегистрировано при сравнении больных ТЧБА и легкой астмой ($n=3$), а также пациентов ТРБА и легкой БА ($n=3$) (Рисунок 9). Для двенадцати генов установлено повышение уровня экспрессии при сравнении пациентов тяжелой контролируемой БА с другими группами. Для одного гена уровень экспрессии повышен у больных ТЧБА и ТРБА по сравнению с таковым у больных легкой астмой (Рисунок 9).

Для 30 генов показано статистически значимое понижение уровня экспрессии в одной или нескольких сравниваемых группах (Рисунок 10).

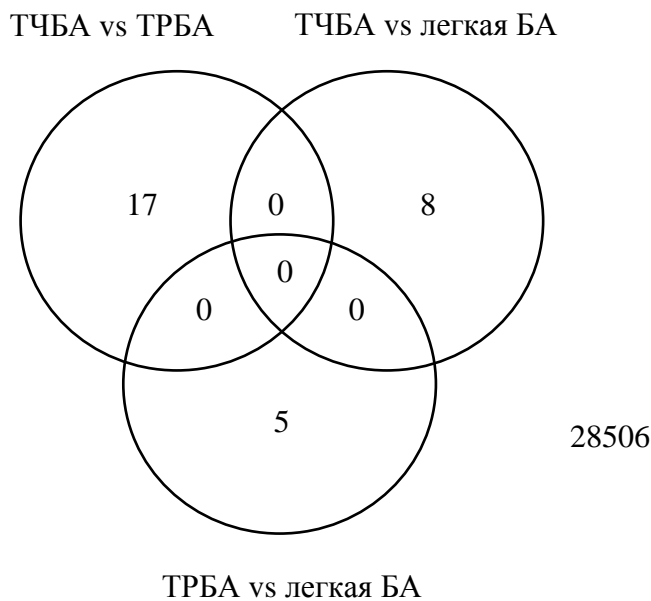


Рисунок 10. Количество генов со сниженной экспрессией на Визите 3 ($p<0,05$)

Наибольшее число генов со сниженной экспрессией зарегистрировано у больных ТЧБА при сравнении с пациентами с резистентной к терапии БА ($n=17$). Для восьми генов установлен сниженный уровень экспрессии у больных ТЧБА по сравнению с таковым у пациентов с легкой персистирующей БА. У больных ТРБА по сравнению с пациентами с легкой БА установлено понижение уровня экспрессии для пяти генов (Рисунок 10). Не установлено генов, уровень

экспрессии которых был специфическим образом снижен в одной из сравниваемых групп (Рисунок 10).

4.2.1 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА

Для групп терапевтически чувствительной и легкой персистирующей астмы определен перечень генов с дифференциальной экспрессией (Таблица 23). Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p < 0,05$ и любым значением FC приведен в Приложении А (Таблица А.4).

Таблица 23

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с ТЧБА и легкой БА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
Любое изменение	24	15	7
в 2 и более раза	23	15	7
в 5 и более раз	9	9	6

В перечень генов, которые характеризуются дифференциальной экспрессией с высоким уровнем достоверной вероятности вошли гены, функция которых может иметь отношение к патогенезу астмы (Таблица 24).

Таблица 24

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	16,40	0,00005
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	27,43	0,00039
8105908	OCLN ///	occludin /// occludin pseudogene	0,19	0,00070

	LOC647859			
8120878	ENST00000384159	ENST00000384159	0,40	0,00070
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	10,29	0,00070
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	24,69	0,00070
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	13,67	0,00070
8030944	ZNF578	zinc finger protein 578	0,28	0,00166
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	12,15	0,00166
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	20,96	0,00338
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	4,52	0,00411
7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,38	0,00453
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	7,89	0,00475
8176384	ZFY	zinc finger protein, Y-linked	4,49	0,00546
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	3,35	0,00812
7972932	FLJ41484	hypothetical LOC650669	0,29	0,01522
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	2,78	0,01953
8134460	FLJ30064	hypothetical protein LOC644975	2,55	0,02437
7942779	ENST00000384089	ENST00000384089	4,41	0,03290
8031398	NLRP2	NLR family, pyrin domain containing 2	0,38	0,03290

На момент Визита 3, при сравнении экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА, этими генами являются - *USP9Y* и *NLRP2* функция и вероятная патогенетическая связь которых с БА описаны выше. На момент Визита 3 экспрессия гена *USP9Y* увеличена более чем в 10 раз у больных ТЧБА в сравнении с легкой БА ($p < 0,00070$), в то время как экспрессия гена *NLRP2* снижена более чем в два раза у пациентов ТЧБА в сравнении с легкой БА ($p < 0,03290$).

4.2.2 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА

Для групп тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмы определен перечень генов с дифференциальной экспрессией (Таблица 25). Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p < 0,01$ и любым значением FC приведен в Приложении А (Таблица А.5).

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с
ТЧБА и ТРБА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	p<0,05	p<0,01	p<0,001
Любое изменение	55	30	15
в 2 и более раза	42	27	15
в 5 и более раз	9	9	7

В перечень генов, которые характеризуются дифференциальной экспрессией с высоким уровнем достоверной вероятности, вошли гены, функция которых может иметь отношение к патогенезу астмы (Таблица 26).

Таблица 26

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у
больных ТЧБА и ТРБА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8165646	NC_001807	NC_001807	2,85	0,00001
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	9,96	0,00003
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	4,82	0,00005
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	8,81	0,00005
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	17,33	0,00005
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	10,24	0,00008
7950447	XRRA1 /// RNF169	X-ray radiation resistance associated 1 /// ring finger protein 169	0,44	0,00034
8112376	CENPK	centromere protein K	4,51	0,00034
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	14,93	0,00034
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	3,21	0,00065
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A,	15,02	0,00067

		Y-linked		
8093104	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	2,66	0,00079
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	0,36	0,00083
7903592	KIAA1324	KIAA1324	0,16	0,00096
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	0,25	0,00096
8149574	CSGALNACT1	chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1	0,48	0,00126
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	7,31	0,00142
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	2,66	0,00142
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	5,81	0,00168
8009243	C17orf60	chromosome 17 open reading frame 60	0,49	0,00186

На момент Визита 3, при сравнении экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА этими генами являются - *USP9Y*, *HLA-DQB1*, *C17orf60*, *LILRA5* функция и вероятная патогенетическая связь которых с БА описаны выше.

4.2.3 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных ТРБА и легкой БА

Для групп тяжелой терапевтически резистентной и легкой астмы определен перечень из 9 генов с дифференциальной экспрессией с уровнем значимости $p < 0,05$ (Таблица 27).

Таблица 27

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных ТРБА и легкой БА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
Любое изменение	9	0	0
в 2 и более раза	8	0	0
в 5 и более раз	0	0	0

В перечень генов, которые характеризуются дифференциальной экспрессией с высоким уровнем достоверной вероятности, не вошли гены, функция которых может иметь вероятное отношение к патогенезу астмы (Таблица 28).

Таблица 28

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у больных ТРБА и легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8016285	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC646043 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// nucleosome-remodeling factor subunit BPTF-like /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,38	0,02667
8016300	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,39	0,02667
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	0,46	0,02667
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	3,13	0,02667
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	4,23	0,02667
7940824	NAA40	N(alpha)-acetyltransferase 40, NatD catalytic subunit, homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	0,40	0,03415
8170834	TKTL1	transketolase-like 1	2,19	0,03415
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	3,38	0,03689
7908779	RNPEP	arginyl aminopeptidase (aminopeptidase B)	0,53	0,04426

4.3 Дифференциальная экспрессия генов на Визите 4 (24 недели терапии)

Анализ транскриптома образцов, полученных на Визите 4, идентифицировал 4041 ген, экспрессия которых статистически значимо различалась между сравниваемыми группами.

Согласно полученным данным, наибольшее число генов со специфичной дифференциальной экспрессией зарегистрировано между тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной БА (n=1664). Меньшее количество генов со

специфичной экспрессией зарегистрировано между ТРБА и легкой БА (n=1035) и ТЧБА и легкой БА (n=39).

Для 1209 генов установлены различия в уровне экспрессии одновременно при сравнении тяжелой чувствительной и тяжелой резистентной БА, а также тяжелой резистентной и легкой БА. Таким образом, ТРБА специфическим образом характеризуется отличием в уровне экспрессии 1209 генов от других исследованных групп. Также, по результатам проведенного анализа установлено, что тяжелая терапевтически чувствительная и легкая персистирующая астма характеризуются отличием в уровне экспрессии 44 и 45 генов соответственно (Рисунок 11).

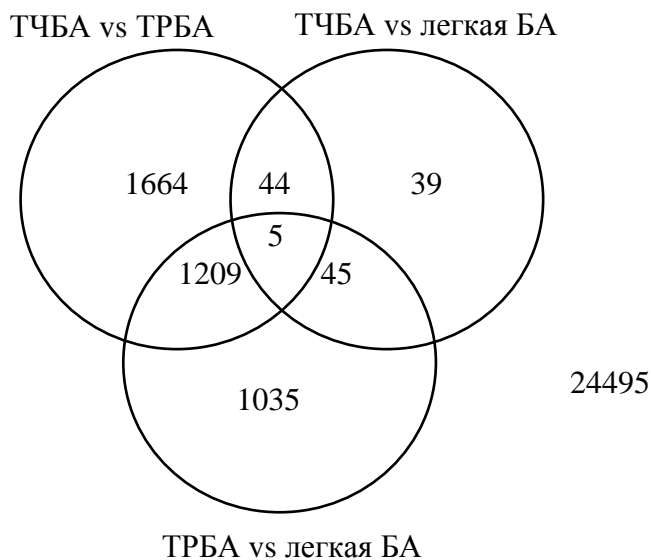


Рисунок 11. Количество генов с отличающейся экспрессией на Визите 4 ($p < 0,05$)

В рамках проведенного статистического анализа определен перечень из 2608 генов, экспрессия которых статистически значимо выше в одной или нескольких сравниваемых группах.

У больных ТЧБА по сравнению с терапевтически резистентной формой болезни установлено 1922 гена с повышенным уровнем экспрессии, в том числе 1890 с отличиями в уровне экспрессии только для этих групп сравнения.

Значительно меньшее количество генов со специфичной экспрессией зарегистрировано при сравнении больных ТРБА и легкой БА (n=650), а также тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА (n=19) (Рисунок 12).

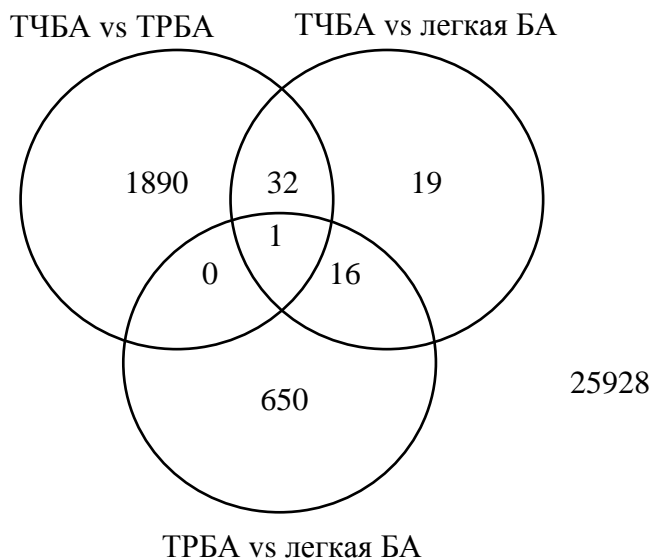


Рисунок 12. Количество генов с повышенной экспрессией на Визите 4 ($p < 0,05$)

Для 32 генов установлен повышенный уровень экспрессии у больных ТЧБА по сравнению с таковыми у больных тяжелой резистентной и легкой астмой. Для 16 генов показан повышенный уровень экспрессии у больных обеими формами тяжелой астмы по сравнению с группой легкой БА (Рисунок 12).

Анализ транскриптома идентифицировал 2645 генов, экспрессия которых статистически значимо снижена в одной или нескольких сравниваемых группах.

Наибольшее число генов со сниженной экспрессией зарегистрировано при сравнении ТРБА и легкой персистирующей БА (n=1626, в том числе 1594 – с отличиями в уровне экспрессии только для этих групп сравнения).

Значительно меньшее количество генов со специфичной экспрессией зарегистрировано для ТЧБА по сравнению с ТРБА (n=986), а также ТЧБА и легкой БА (n=20) (Рисунок 13).

Для 12 генов уровень экспрессии ниже у больных ТЧБА по сравнению с таковыми для больных из других групп сравнения. Для 32 генов уровень

экспрессии статистически значимо ниже у больных обеими формами тяжелой БА по сравнению с легкой формой болезни (Рисунок 13).

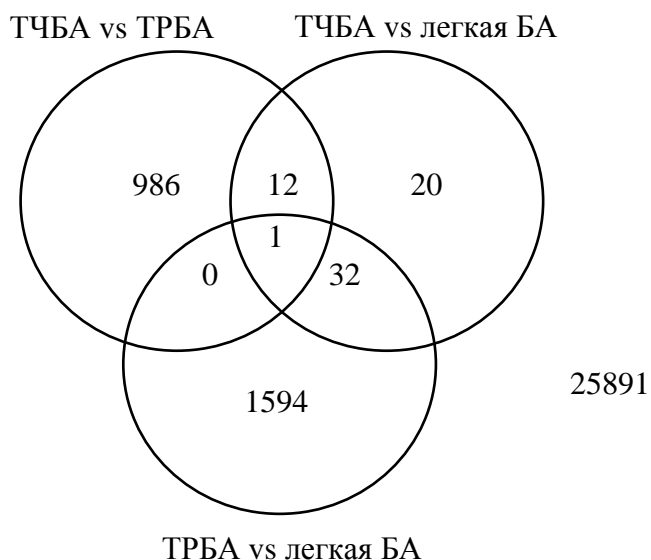


Рисунок 13. Количество генов со сниженной экспрессией на Визите 4 ($p < 0,05$)

4.3.1 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА

Для групп тяжелой терапевтически чувствительной и легкой персистирующей астмы определен перечень генов с дифференциальной экспрессией (Таблица 29). Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p < 0,01$ и любым значением FC приведен в Приложении А (Таблица А.6).

Таблица 29

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с ТЧБА и легкой БА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
Любое изменение	133	50	26

в 2 и более раза	68	38	25
в 5 и более раз	9	9	9

В данных контрастах также зарегистрированы гены с дифференциальной экспрессией с высоким уровнем достоверной вероятности, функция которых может иметь вероятное отношение к патогенезу астмы. К числу таких генов относятся описанные выше гены *USP9Y*, *GSTM1*, *CCR4*, *NLRP2*, а также ген *CCR6* (Таблица 30).

Таблица 30

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	18,84	<0,00001
8105908	OCLN /// LOC647859	occludin /// occludin pseudogene	0,16	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	15,80	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	11,82	<0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	26,72	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	20,59	<0,00001
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	10,43	<0,00001
7923547	CHI3L1	chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)	3,47	<0,00001
8107044	ERAP2	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	0,25	0,00001
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	3,78	0,00001
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	3,03	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	17,85	0,00001
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	3,60	0,00001
8073752	FAM118A	family with sequence similarity 118, member A	2,32	0,00002
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,49	0,00003
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	3,94	0,00003
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	8,35	0,00004
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	2,96	0,00013

7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,44	0,00014
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,48	0,00035

Ген *CCR6* кодирует протеин семейства бета хемокиновых рецепторов и преимущественно экспрессируется незрелыми дендритными клетками и Т-клетками памяти. Эти рецепторы играют важную роль в созревании и дифференцировке В-лимфоцитов, а также оказывают влияние на миграцию дендритных и Т-клеток при воспалении и иммунном ответе [231, 274]. По результатам данного исследования экспрессия этого гена снижена более чем в 2 раза в группе ТЧБА в сравнении с легкой БА ($p < 0,00118$), что может, вероятно, свидетельствовать об изменении характера миграции дендритных и Т-клеток при резистентной форме болезни.

4.3.2 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА

Для групп тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмы определен перечень генов с дифференциальной экспрессией (Таблица 31). Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p < 0,01$ и любым значением FC приведен в Приложении А (Таблица А.7).

Таблица 31

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с ТЧБА и ТРБА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
Любое изменение	2922	733	79
в 2 и более раза	255	155	55
в 5 и более раз	9	9	9

В данных контрастах зарегистрированы гены с дифференциальной экспрессией с высоким уровнем доверительной вероятности, функция которых может иметь вероятное отношение к патогенезу астмы. К числу таких генов относятся описанные выше гены *USP9*, *HLA-DQB1*, *LAT*, *C17orf60*, а также гены *IL2RB*, *KIR2DS2*, *NFATC2* (Таблица 32).

Таблица 32

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	20,18	<0,00001
8165646	NC_001807	NC_001807	3,18	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	18,78	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	13,71	<0,00001
8112376	CENPK	centromere protein K	7,14	<0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	28,23	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	20,05	<0,00001
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	9,34	0,00001
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	3,27	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	20,63	0,00001
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	0,32	0,00002
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,89	0,00002
8171136	CRLF2 /// P2RY8	cytokine receptor-like factor 2 /// purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8	2,20	0,00002
8177026	CRLF2 /// P2RY8	cytokine receptor-like factor 2 /// purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8	2,20	0,00002
8093950	S100P	S100 calcium binding protein P	0,30	0,00002
8104139	LOC389834	ankyrin repeat domain 57 pseudogene	3,09	0,00004
8076463	RRP7B	ribosomal RNA processing 7 homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	3,27	0,00004
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	2,13	0,00004
8074748	PI4KA /// PI4KAP2 /// PI4KAP1	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 2 /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 1	2,05	0,00004
7898736	HSPC157	hypothetical LOC29092	2,15	0,00005

Так, ген *IL2RB* кодирует субъединицу бета рецептора ИЛ-2, который играет важную роль в клеточном иммунитете. Этот рецептор присутствует в виде трех изоформ отличающихся по степени аффинитета к ИЛ-2 [216]. По данным нашего исследования экспрессия гена *IL2RB* увеличена более чем в 2,5 раза в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА ($p < 0,0004$). Это может косвенно свидетельствовать о сдвиге паттерна в сторону Th1 звена посредством механизма взаимного подавления, т.е. цитокины Th1 профиля подавляют продукцию Th2 цитокинов и наоборот. Данную концепцию подтверждает и регистрация гена *NFATC2*, который кодирует ядерный фактор активированных Т-клеток и играет ключевую роль в индукции транскрипции генов в процессе иммунного ответа путем регуляции экспрессии генов цитокинов Т-клеток, таких как ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ФНО- α и ГМ-КСФ [120, 278]. Экспрессия гена *NFATC2* увеличена более чем в 2 раза в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА ($p < 0,00104$).

Еще одним геном, функция которого может иметь отношение к патогенезу астмы, является ген *KIR2DS2*, кодирующий иммуноглобулин-подобный рецептор НК, который экспрессируется как на киллерах, так и на некоторых Т-клетках. Эти рецепторы играют важную роль в регуляции иммунного ответа [204]. В нашем исследовании показано, что экспрессия гена *KIR2DS2* увеличена почти в 3 раза в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА ($p < 0,00097$), что косвенно может свидетельствовать об угнетении функции киллеров при резистентной форме болезни.

4.3.3 Сравнительный анализ уровня генной экспрессии у больных ТРБА и легкой БА

Для групп тяжелой терапевтически резистентной и легкой астмы определен перечень генов с дифференциальной экспрессией (Таблица 33). Полный перечень генов с уровнем статистической значимости $p < 0,01$ и любым значением FC приведен в Приложении А (Таблица А.8).

Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении больных с
ТРБА и легкой БА

FC (кратное изменение)	Уровень значимости		
	p<0,05	p<0,01	p<0,001
Любое изменение	2294	529	68
в 2 и более раза	269	154	50
в 5 и более раз	1	1	1

В данных контрастах зарегистрированы гены с дифференциальной экспрессией с высоким уровнем доверительной вероятности, функция которых может иметь отношение к патогенезу астмы. К числу таких генов относятся уже описанные выше гены *C17orf60*, *LAT*, *GSTM1*, *NFATC2*, *IL2RB* и *CCR6* (Таблица 34).

Гены с наибольшей статистической значимостью отличий в уровне экспрессии у
больных ТРБА и легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8165646	NC_001807	NC_001807	0,33	<0,00001
8016285	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC646043 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// nucleosome-remodeling factor subunit BPTF-like /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,31	<0,00001
8016300	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,31	<0,00001
8104139	LOC389834	ankyrin repeat domain 57 pseudogene	0,28	0,00001
7933772	ANK3	ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	0,34	0,00002
8007794	NBR2 ///	neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein	0,33	0,00002

	ARL17A /// ARL17B	coding) /// ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B		
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,39	0,00002
8170834	TKTL1	transketolase-like 1	2,40	0,00002
7987145	FMN1	formin 1	0,22	0,00002
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	0,44	0,00002
8055183	SMPD4	sphingomyelin phosphodiesterase 4, neutral membrane (neutral sphingomyelinase-3)	0,41	0,00002
8076826	C22orf34	chromosome 22 open reading frame 34	0,40	0,00005
8119223	FLJ45825	hypothetical protein LOC646888	0,18	0,00008
8112376	CENPK	centromere protein K	0,23	0,00008
8071044	MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// ТЕКТ4P1	MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,40	0,00010
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	3,31	0,00014
8069399	DIP2A	DIP2 disco-interacting protein 2 homolog A (Drosophila)	0,43	0,00019
8071051	FLJ44253 /// MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// ТЕКТ4P1	hypothetical gene supported by AK096952; AK126241; BC068588 /// MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,41	0,00019
7953200	CCND2	cyclin D2	0,51	0,00022
7918457	KCNA3	potassium voltage-gated channel, shaker- related subfamily, member 3	0,39	0,00024

Таким образом, исходно в сравниваемых группах больных БА идентифицированы 1388 генов, экспрессия которых статистически значимо различалась. При этом для каждой группы определены гены со специфичной экспрессией. В течение периода наблюдения (24 недели) общее количество генов с дифференциальной экспрессией изменялось и к окончанию периода наблюдения на фоне базисной противовоспалительной терапии их количество достигло 4041 гена. Необходимо отметить, что к окончанию лечебного периода зарегистрировано 1209 генов, характеризующихся отличием в уровне экспрессии у больных ТРБА по сравнению с пациентами других сравниваемых групп (Таблица 35).

Количество дифференциально экспрессирующихся генов на визитах

	Визит 1	Визит 3	Визит 4
Общее количество	1388	71	4041
Специфичны для ТРБА	43	4	1209
Специфичны для ТЧБА	22	12	44
Специфичны для легкой БА	55	1	45

Наряду с этим, к окончанию периода наблюдения в сравнении с исходными показателями почти в 6 раз возросло количество генов с увеличенной экспрессией в одном или нескольких сравниваемых контрастах и больше чем в 2,5 раза увеличилось количество генов со сниженной экспрессией.

Резюме

В рамках оценки дифференциальной экспрессии генов анализ транскриптома образцов идентифицировал 1388 генов, экспрессия которых статистически значимо различалась между тремя сравниваемыми группами.

Наблюдаемые различия в количестве генов со специфичной экспрессией, вероятно, могут свидетельствовать о том, что легкая и тяжелая формы болезни различаются вовлечением большего количества физиологических и метаболических путей, лежащих в основе формирования тяжести, а в основе формирования терапевтической резистентности в группе тяжелой астмы лежит значительно меньшее количество таких процессов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что исходно сравниваемые группы характеризуются различными профилями экспрессии генов, что может отражать и наличие различных механизмов персистенции воспаления. А в течение периода наблюдения на фоне базисной противовоспалительной терапии эти различия нарастают преимущественно за счет изменения экспрессии генов в группе ТРБА.

Глава 5. Анализ генных онтологий и KEGG путей

При оценке дифференциальной экспрессии генов показано, что сравниваемые группы больных БА характеризуются различными профилями экспрессии, однако такой анализ дает лишь количественное представление об отличиях между группами.

Для характеристики молекулярных и биологических паттернов различий нами проведен анализ генных онтологий (биологические процессы и молекулярные функции) и KEGG путей.

В рамках оценки онтологий биологический процесс представляет собой ряд событий, обусловленных одной или несколькими молекулярными функциями. Молекулярная функция описывает активность на молекулярном уровне вне связи с местом и контекстом реализации данной функции. Необходимо отметить, что молекулярные функции, в целом, соответствуют действиям, которые могут выполняться отдельными генными продуктами, но некоторые действия выполняются комплексами генных продуктов.

В рамках проведенного исследования также проанализированы KEGG пути с использованием Киотской Энциклопедии Генов и Геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG). Этот проект объединяет всю известную информацию о генах и протеинах, молекулярных взаимодействиях и биологических компонентах и реакциях.

Генные онтологии и KEGG пути проанализированы с учетом направления изменения экспрессии (повышение или снижение). В анализ включены онтологии и пути со статистической значимостью $p < 0,05$.

5.1 Сравнение тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА

При сравнении групп тяжелой терапевтически чувствительной и легкой астмы определены 16 биологических процессов и 11 молекулярных функций, ассоциированных с генами, уровень экспрессии которых повышен у больных ТЧБА в сравнении с легкой астмой (Таблица 36), а также 20 биологических

процессов и 7 молекулярных функций, связанных с генами, уровень экспрессии которых снижен в этих группах сравнения (Таблица 37). Гены, ассоциированные с онтологиями, представлены в таблице 38.

Таблица 36

Генные онтологии (биологические процессы и молекулярные функции), ассоциированные с генами, экспрессия которых была повышена в группе ТЧБА в сравнении с легкой БА

GO.ID	Название процесса	p
Биологические процессы		
GO:0006805	xenobiotic metabolic process	0,0014
GO:0006026	aminoglycan catabolic process	0,0265
GO:0007620	copulation	0,0265
GO:0051923	sulfation	0,0265
GO:0034375	high-density lipoprotein particle remodeling	0,0291
GO:0033059	cellular pigmentation	0,0291
GO:0070328	triglyceride homeostasis	0,0318
GO:0006691	leukotriene metabolic process	0,0318
GO:0006984	ER-nucleus signaling pathway	0,0318
GO:0043691	reverse cholesterol transport	0,0318
GO:0009395	phospholipid catabolic process	0,0344
GO:0090263	positive regulation of canonical Wnt receptor signaling pathway	0,0395
GO:0034381	plasma lipoprotein particle clearance	0,0421
GO:0006584	catecholamine metabolic process	0,0421
GO:0019433	triglyceride catabolic process	0,0498
GO:0046470	phosphatidylcholine metabolic process	0,0498
Молекулярные функции		

GO:0016702	oxidoreductase activity, acting on single donors with incorporation of molecular oxygen, incorporation of two atoms of oxygen	0,0044
GO:0008022	protein C-terminus binding	0,0150
GO:0019843	rRNA binding	0,0320
GO:0030169	low-density lipoprotein particle binding	0,0377
GO:0004364	glutathione transferase activity	0,0406
GO:0016251	general RNA polymerase II transcription factor activity	0,0406
GO:0043169	cation binding	0,0414
GO:0005529	sugar binding	0,0426
GO:0008374	O-acyltransferase activity	0,0434
GO:0046332	SMAD binding	0,0463
GO:0016709	oxidoreductase activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen, NAD(P)H as one donor, and incorporation of one atom of oxygen	0,0491

Таблица 37

Генные онтологии (биологические процессы и молекулярные функции), ассоциированные с генами, экспрессия которых была снижена в группе ТЧБА в сравнении с легкой БА

GO.ID	Название процесса	p
Биологические процессы		
GO:0060337	type I interferon-mediated signaling pathway	0,00013
GO:0009615	response to virus	0,00023
GO:0009636	response to toxin	0,00289
GO:0051412	response to corticosterone stimulus	0,00460
GO:0006935	chemotaxis	0,00637

GO:0015850	organic alcohol transport	0,00659
GO:0014070	response to organic cyclic compound	0,00688
GO:0043067	regulation of programmed cell death	0,00734
GO:0071377	cellular response to glucagon stimulus	0,00760
GO:0006833	water transport	0,00934
GO:0051591	response to cAMP	0,01332
GO:0006952	defense response	0,01373
GO:0010466	negative regulation of peptidase activity	0,01430
GO:0007204	elevation of cytosolic calcium ion concentration	0,01589
GO:0009914	hormone transport	0,02902
GO:0045087	innate immune response	0,03218
GO:0051592	response to calcium ion	0,03492
GO:0016049	cell growth	0,03645
GO:0006184	GTP catabolic process	0,03841
GO:0030198	extracellular matrix organization	0,04329
Молекулярные функции		
GO:0035250	UDP-galactosyltransferase activity	<0,00001
GO:0003899	DNA-directed RNA polymerase activity	0,00075
GO:0003924	GTPase activity	0,00218
GO:0016493	C-C chemokine receptor activity	0,00473
GO:0046983	protein dimerization activity	0,00743
GO:0019956	chemokine binding	0,01323
GO:0004867	serine-type endopeptidase inhibitor activity	0,02585

Таблица 38

Гены, ассоциированные с онтологиями (биологические процессы и молекулярные функции) в группе ТЧБА в сравнении с легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	p
GO:0006805 - xenobiotic metabolic process (+)			
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	0,000673
8000582	SULT1A2	sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 2	0,02763
8026456	CYP4F3	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 3	0,041801
GO:0051923 – sulfation (+)			
8000582	SULT1A2	sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 2	0,0276
GO:0006691 - leukotriene metabolic process (+)			
8026456	CYP4F3	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 3	0,0418
GO:0006584 - catecholamine metabolic process (+)			
8000582	SULT1A2	sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 2	0,0276
GO:0060337- type I interferon-mediated signaling pathway (-)			
7945371	IFITM3	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)	0,000273
8068713	MX1	myxovirus (influenza virus) resistance 1, interferon-inducible protein p78 (mouse)	0,005023
7914127	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	0,006910
7958895	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3, 100kDa	0,007304
7937335	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	0,042550
GO:0009615 - response to virus (-)			
7945371	IFITM3	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)	0,000273
8068713	MX1	myxovirus (influenza virus) resistance 1, interferon-inducible protein p78 (mouse)	0,005023
8029465	BCL3	B-cell CLL/lymphoma 3	0,016200
8096361	HERC5	hect domain and RLD 5	0,019417
8040080	RSAD2	radical S-adenosyl methionine domain containing 2	0,029769
7937335	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	0,042550

GO:0051412 - response to corticosterone stimulus (-)			
8026047	JUNB	jun B proto-oncogene	0,0302
7959070	PEBP1	phosphatidylethanolamine binding protein 1	0,0418
GO:0045087 - innate immune response (-)			
7945371	IFITM3	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)	0,000273
8068713	MX1	myxovirus (influenza virus) resistance 1, interferon-inducible protein p78 (mouse)	0,005023
8071036	S100B	S100 calcium binding protein B	0,005023
7914127	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	0,006910
7958895	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3, 100kDa	0,007304
8039236	LILRA5	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 5	0,007304
8118556	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,008370
8096361	HERC5	hect domain and RLD 5	0,019417
8172333	CFP	complement factor properdin	0,036870
7937335	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	0,042550
GO:0006935- chemotaxis (-)			
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,00621
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,00995
8167449	PLP2	proteolipid protein 2 (colonic epithelium-enriched)	0,02107
8173493	CXCR3	chemokine (C-X-C motif) receptor 3	0,02796
8038407	RRAS	related RAS viral (r-ras) oncogene homolog	0,03812
8059279	EPHA4	EPH receptor A4	0,04180
8045637	KIF5C	kinesin family member 5C	0,04933
GO: 0016493 - C-C chemokine receptor activity (-)			
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,00621
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,00995

GO: 0019956 -chemokine binding (-)			
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,00621
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,00995
8167449	PLP2	proteolipid protein 2 (colonic epithelium-enriched)	0,02107
8173493	CXCR3	chemokine (C-X-C motif) receptor 3	0,02796
GO:0043067 - regulation of programmed cell death (-)			
8031398	NLRP2	NLR family, pyrin domain containing 2	0,000285
8068713	MX1	myxovirus (influenza virus) resistance 1, interferon-inducible protein p78 (mouse)	0,005023
7914127	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	0,006910
8029465	BCL3	B-cell CLL/lymphoma 3	0,016200
8056005	ACVR1	activin A receptor, type I	0,022623
8065403	CST3	cystatin C	0,041801

С помощью анализа генных онтологий установлены биологические процессы и молекулярные функции, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

К одному из таких биологических процессов можно отнести «метаболизм ксенобиотиков» (GO:0006805 - xenobiotic metabolic process, $p=0,0014$), который связан с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой. Изменение активности этого биологического процесса теоретически может вносить вклад в формирование тяжести болезни и фармакотерапевтической резистентности. В процессы метаболизма ксенобиотиков вовлечены белки семейства цитохрома Р450, функции которого тесно связаны с метаболизмом лекарств и стероидов. Индукция этого биологического процесса может приводить к повышению активности цитохрома Р450 и укорочению периода полувыведения лекарственных препаратов, что теоретически может быть обоснованием для изменения назначаемых доз и режима приема препаратов у пациентов с тяжелой формой болезни.

По результатам проведенного исследования эта генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии гена *CYP4F3*, который кодирует протеин из семейства цитохрома P450, ответственный, преимущественно, за инициацию процесса инактивации и деградации медиатора воспаления лейкотриена В4 (Таблица 38).

Также генная онтология «метаболизм ксенобиотиков» ассоциирована с увеличением экспрессии генов *GSTM1* и *SULT1A2*, которые имеют непосредственное отношение к метаболизму лекарственных препаратов.

Ген *GSTM1* кодирует глутатион S-трансферазу класса *mu*, функция которой состоит в детоксикации канцерогенов, лекарственных препаратов, токсинов окружающей среды, посредством их конъюгации с глутатионом. Генетические вариации этого гена могут вносить вклад в индивидуальную чувствительность к канцерогенам, токсинам и лекарственным препаратам [288, 155]. Кроме этого, по данным многочисленных исследований полиморфизм данного гена ассоциирован с риском развития астмы, а также с нейтрофильным паттерном воспаления [273, 297, 73].

Ген *SULT1A2* кодирует фермент сульфотрансферазу, катализирующую конъюгацию многих гормонов, нейротрансмиттеров и лекарств [132].

С другой стороны, изменение активности метаболизма ксенобиотиков может модифицировать клиническую реализацию триггеров (табачный дым, загрязнение окружающей среды, профессиональные раздражители), а также модифицировать риск развития заболевания [232, 257].

К процессу биотрансформации ксенобиотиков имеет отношение и биологический процесс «сульфатирование» (GO:0051923 – sulfation, $p=0,0265$), который ассоциирован с генами, уровень экспрессии которых, по данным проведенного исследования, увеличен в группе ТЧБА в сравнении с легкой формой болезни.

Процесс сульфатирования относится ко второй фазе биотрансформации ксенобиотиков. Основными генными продуктами данной онтологии являются ферменты семейства сульфотрансфераз. У человека обнаружены три семейства

данного фермента – SULT1, SULT2, SULT3 и около 40 изоферментов. Основную роль в сульфатировании лекарственных средств и их метаболитов играют изоферменты SULT1, из которых особенно важными считаются SULT1A1 и SULT1A3 [119].

По результатам нашего исследования эта генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии гена *SULT1A2*, кодирующего сульфотрансферазу, имеющую непосредственное отношение к метаболизму лекарственных препаратов.

Одним из генных продуктов, ассоциированных с генной онтологией «сульфатирование», является N-ацетилаза/N-сульфотрансфераза-1, которая является ключевым продуктом в биосинтезе гепаран сульфата. На модели астмы у мышей, дефицитных по этому гену, продемонстрировано снижение БГР, значительное снижение содержания эозинофилов, макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов в очаге воспаления, а также уровней ИЛ-5, ИЛ-2, TGF- β 1 и эотаксина [112]. Таким образом, повышение активности сульфатирования теоретически может вносить вклад в формирование тяжести болезни.

Особенности процессов сульфатирования показаны для некоторых препаратов, широко применяющихся в терапии астмы. Так, кортикостероид будесонид состоит из двух эпимеров 22R и 22S, которые конъюгируются цитозольной сульфотрансферазой (SULT2A1), при этом эпимеры обладают различной кинетической активностью. Показано, что эпимер 22R сульфатируется в 3,5 раза активнее в сравнении с эпимером 22S, что приводит к укорочению периода полувыведения [306].

Сальбутамол также представляет собой эквимолярную смесь двух энантиомеров (рацемат). При этом R-сальбутамол обладает свойствами бета2-агониста, а S-форма – нет. Рацемат сальбутамола также подвергается стереоселективному сульфатированию сульфотрансферазами, в связи с чем S-форма выводится значительно медленнее и достигает более высоких концентраций в плазме. При этом показано, что метаболизм сальбутамола различается у пациентов с астмой и здоровых лиц. Так, у пациентов с астмой, не

получающих кортикостероиды, регистрируются более высокие уровни R- и S-форм в сравнении со здоровыми лицами и пациентами, получающими базисную противовоспалительную терапию. Наиболее вероятным объяснением этим данным могут быть дефектные метаболические функции у пациентов с БА, возможно ферментативного происхождения [224].

Другим биологическим процессом, вероятно, ассоциированным с патогенезом астмы, по данным нашего исследования, является «метаболизм лейкотриенов» (GO:0006691 – leukotriene metabolic process, $p=0,0318$). Эта генная онтология ассоциирована с генами, экспрессия которых повышена в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой.

В патогенезе БА лейкотриены участвуют в регуляции ранней фазы реакции немедленного типа и обладают исключительно провоспалительными и бронхоконстрикторными свойствами. Ключевую роль лейкотриены играют в патогенезе аспириновой астмы, что подтверждается высокой эффективностью использования блокаторов липоксигеназы при данной форме болезни.

По данным последних исследований блокада функции лейкотриенов может рассматриваться в качестве терапевтической мишени не только для аспириновой астмы, но и для других форм болезни. Так показано, что выпадение функции рецептора 1 лейкотриена В4, который экспрессируется на Th2 лимфоцитах, приводит к подавлению развития БГР, эозинофильного воспаления и гиперплазии бокаловидных клеток на модели астмы у животных. Также данные изменения сопровождаются снижением продукции IgE и накоплением ИЛ-5 и ИЛ-13 в БАЛ [39]. Таким образом, наблюдается снижение выраженности практически всех эффекторов атопического воспаления.

По результатам нашего исследования данная генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии гена *CYP4F3*, который кодирует протеин, принадлежащий к семейству цитохрома P450 и ответственен преимущественно за инициацию процесса инактивации и деградации лейкотриена В4.

Еще одним биологическим процессом, ассоциированным с патогенезом астмы, по данным нашего исследования, является «метаболизм катехоламинов» (GO:0006584 - catecholamine metabolic process, $p=0,0421$), который также ассоциирован с генами, экспрессия которых повышена в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой.

Эта генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии гена *SULT1A2*, кодирующего сульфотрансферазу, ответственную за конъюгацию гормонов, лекарств и ксенобиотиков. Повышение активности этого фермента может быть ассоциировано с более быстрой инактивацией катехоламинов.

Катехоламины опосредуют свое действие через адренорецепторы, что приводит к подавлению секреции провоспалительных цитокинов эффекторными клетками воспаления и, соответственно, уменьшению выраженности отека и воспаления. В физиологических концентрациях с бета-рецепторами связывается преимущественно адреналин. При этом снижение уровня адреналина в плазме крови ниже физиологического уровня, вероятно, может лежать в основе активации секреции цитокинов провоспалительного профиля у пациентов с БА.

Однако, по данным некоторых исследований, при клинических симптомах БА и обострении болезни регистрируется кратное увеличение уровня катехоламинов (адреналин в 4,6 раза, норадреналин в 2,9 раза) и биогенных аминов (гистамин в 3,6 раза, серотонин в 1,4 раза) [18]. Авторы исследования этот феномен объясняют изменением концентрации метаболитов в местном очаге воспаления, так как катехоламины являются первичными медиаторами стрессорного действия.

В аспекте тяжелой БА данному феномену может быть и другое объяснение. На фоне частого приема бета2-адреномиметиков, которые в терапии астмы используются как средства «скорой помощи», повышенный метаболизм катехоламинов может быть следствием адаптационного механизма на фоне функциональной несостоятельности и/или десенситизации бета2-адренорецепторов у данной группы пациентов [116].

Среди молекулярных функций, ассоциированных с генами, экспрессия которых повышена в группе ТЧБА в сравнении с легкой БА, по данным нашего исследования, не зарегистрировано онтологий, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

С помощью анализа генных онтологий установлены биологические процессы и молекулярные функции, ассоциированные с генами, экспрессия которых понижена в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой.

Одним из таких биологических процессов, вероятно, можно считать «сигнальный путь ИФН 1 типа» (GO:0060337 - type I interferon-mediated signaling pathway, $p=0,00013$). Данный биологический процесс представляет собой серию молекулярных сигналов, которые инициируются связыванием ИФН первого типа с рецептором на поверхности клетки, что приводит к изменению клеточных процессов и транскрипции. Основным эффектом ИФН первого типа состоит в подавлении синтеза вирусных белков.

По данным нашего исследования эта генная онтология ассоциирована со снижением экспрессии целого ряда генов, ответственных за синтез белков, обеспечивающих противовирусный иммунитет - *IFITM3* (вирус гриппа А, H1N1, вирус западного Нила, тропическая лихорадка), *MX1* (вирус гриппа), *OAS3*, *IFITM1* (вирус гриппа А, коронавирус и др.), а также участвующих в регуляции апоптоза - *IFI6* и *IFITM1*.

В связи с этим, снижение данного биологического процесса в группе ТЧБА может быть основой предрасположенности пациентов данной группы к вирусным инфекциям, которые могут лежать в основе неконтролируемого течения болезни и служить причиной частых обострений.

Данный феномен может подтверждать и снижение экспрессии генов, ассоциированных с другим биологическим процессом – «ответ на вирус» (GO:0009615 - response to virus, $p=0,00023$) – *IFITM3*, *MX1*, *IFITM1*, *BCL3*, *HERC5*, *RSAD2*.

В ряде исследований продемонстрирована сниженная индукция ИФН 1 и 3 типов вирусами семейства риновирус у пациентов со среднетяжелой и тяжелой

БА. В культуре клеток пациентов с тяжелой астмой на фоне высокой вирусной нагрузки регистрировались низкие уровни мРНК ИФН. Более того, в неинфицированных клетках данной группы пациентов оказались сниженными уровни мРНК TLR-3, индуцибельного гена ретиноидной кислоты и меланома ассоциированного гена 5, что может свидетельствовать о врожденном дефекте антивирусного ответа при тяжелой БА [184]. Наряду с этим в ряде исследований на модели астмы у животных была продемонстрирована способность ИФН подавлять эозинофилию в слизистой дыхательных путей и неспецифическую БГР [188, 187].

Еще одним биологическим процессом, который связан с генами, уровень экспрессии которых снижен в группе ТЧБА в сравнении с легкой БА, является «ответ на стимулы кортикостерона» (GO:0051412 - response to corticosterone stimulus, $p=0,00460$).

Наиболее фармакологически активным глюкокортикоидом является кортизол, при этом кортикостерон является малоактивным гормоном коры надпочечников у человека. Однако данный гормон играет значительную роль в адаптивных возможностях организма.

По результатам нашего исследования данная генная онтология ассоциирована со снижением экспрессии таких генов как *JUNB* и *PEBP1*, продукты которых проявляют свою активность преимущественно в центральной нервной системе [249].

В последние несколько лет опубликован ряд работ, в которых продемонстрирована ассоциация психологического и социального стресса с параметрами, характеризующими атопическое воспаление на моделях астмы у животных.

Так в 2009 году Bailey M.T. и соавт. продемонстрировали, что стресс, сопровождающийся выбросом кортикостерона, ассоциирован с увеличением выраженности аллерген-индуцированного воспаления бронхов, что сопровождается повышением уровней ИЛ-5, ГМ-КСФ, IgG1, тимус-

активированных и регуляторных хемокинов, ФНО- α и ИЛ-6, а также со снижением связывающей способности ГКР *in vitro* [301].

Результаты данной работы воспроизведены и на модели астмы у морских свинок (Li B. et al., 2013), где также зафиксировано увеличение БГР, уровней провоспалительных хемокинов и снижение чувствительности ГКР в ответ на психосоциальный стресс [182].

Однако необходимо отметить, что данные результаты получены на моделях астмы у мышей и морских свинок, а у данных животных, в отличие от человека, кортикостерон является основным глюкокортикоидом.

Применительно к тяжелой БА тенденция к вероятному снижению данного биологического процесса может быть обусловлена угнетением гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы на фоне регулярного применения высоких доз ИКС.

Вероятно, одним из основных биологических процессов, применительно к atopическому воспалению и «классическому» патогенезу БА является «врожденный иммунный ответ» (GO:0045087 - innate immune response, $p=0,03218$). По данным нашего исследования данная генная онтология ассоциирована с генами, экспрессия которых понижена в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой. Аналогичным направлением изменения экспрессии ассоциированных генов характеризовались и другие онтологии, имеющие отношение к реализации atopического воспаления - биологический процесс «хемотаксис» (GO:0006935 - chemotaxis, $p=0,00637$) и молекулярные функции – «активность рецепторов С-С хемокинов» (GO:0016493 - C-C chemokine receptor activity, $p=0,00473$) и «связывание хемокинов» (GO:0019956 - chemokine binding, $p=0,01323$).

К генам со сниженной экспрессией, ассоциированных с онтологией «врожденный иммунный ответ» (GO:0045087), по данным настоящего исследования можно отнести – *IFITM3*, *MX1*, *S100B*, *IFI6*, *OAS3*, *LILRA5*, *HLA-DQA1*, *HERC5*, *CFP*, *IFITM1*. Ряд белковых продуктов этих генов играет

ключевую роль в противовирусном иммунитете и регуляции апоптоза (*IFITM3*, *MX1*, *IFITM1*, *IFI6*, *OAS3*, *S100B*, *HERC5*, *CFP*).

Ген *LILRA5* кодирует протеин, принадлежащий к семейству лейкоцитарных иммуноглобулин-подобных рецепторов. Эффект данных рецепторов заключается в активации и ингибировании функции лейкоцитов. Показано, что присутствие данного протеина на поверхности моноцитов приводит к секреции нескольких провоспалительных цитокинов, что доказывает его роль в активации иммунного ответа [348, 212].

Ген *HLA-DQA1* кодирует компонент главного комплекса гистосовместимости класса II (Major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1) и играет ключевую роль в процессе презентации антигена на поверхности антигенпрезентирующих клеток. В целом ряде исследований продемонстрирована ассоциация полиморфизмов данного гена с предрасположенностью к астме и уровнем продукции сывороточного IgE [64, 280, 60]. Эти данные нашли подтверждение и в полногеномном исследовании, опубликованном в 2012 году [168].

Данная характеристика генных онтологий в изучаемых группах может быть обусловлена отличающимся паттерном воспаления при тяжелой форме заболевания в сравнении с легкой.

На данный момент опубликованы результаты десятков исследований, посвященных анализу воспалительного компонента при тяжелой астме. Однако сопоставление полученных результатов представляется затруднительным.

Так продемонстрировано, что тяжелая БА у взрослых в большинстве случаев характеризуется неатопическим компонентом и персистирующим эозинофильным воспалением в отличие от среднетяжелой и легкой формы болезни [290]. В то время как аналогичная форма болезни у детей также характеризовалась эозинофильным воспалением, но практически полным отсутствием экспрессии цитокинов Th2-профиля [250].

Однако в большинстве подобных исследований, в том числе и проведенных нашим научным коллективом, основной эффекторной клеткой при тяжелой форме болезни является нейтрофил [236, 238, 229].

Таким образом, накопленные данные позволяют с большой долей вероятности говорить о том, что в основе тяжелой БА лежат механизмы воспаления, отличные от таковых при легкой и средней степенях тяжести. При этом преобладающий паттерн нейтрофильного воспаления может являться причиной недостаточной эффективности ИКС, которые действуют преимущественно на эозинофильный компонент.

Еще одним биологическим процессом, связанным с генами, экспрессия которых снижена в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой, является «регуляция программируемой клеточной гибели» (GO:0043067 - regulation of programmed cell death, $p=0,00734$).

Считается доказанным, что при БА количество апоптотически измененных эозинофилов прогрессивно уменьшается с нарастанием степени тяжести заболевания [277]. При этом супрессия апоптоза сочетается с преобладанием некротического пути гибели клеток и высвобождением провоспалительных цитокинов и медиаторов. Данные изменения апоптоза характерны и для нейтрофилов [277].

В работах, выполненных в СибГМУ, подтверждаются данные о снижении апоптотической гибели эозинофилов, наиболее выраженные у пациентов с тяжелой БА, а также выявлен ряд специфических механизмов нарушения апоптоза, особенно в группе больных с неконтролируемой астмой, связанный с дисбалансом анти- и проапоптотических факторов, что может лежать в основе формирования терапевтической резистентности [14, 210]. Различные молекулярные механизмы, активирующие апоптоз, в настоящее время рассматриваются в качестве терапевтической мишени для лечения БА [139].

Среди KEGG путей не зарегистрировано процессов, которые могут быть теоретически ассоциированы с формированием тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию (Таблица 39).

KEGG пути, ассоциированные с генами, экспрессия которых изменена при сравнении больных с ТЧБА и легкой БА

KEGG ID	Название пути	p
Повышение экспрессии		
hsa00920	Sulfur metabolism	0,01485
hsa00561	Glycerolipid metabolism	0,04774
Снижение экспрессии		
hsa00604	Glycosphingolipid biosynthesis - ganglio series	0,00026
hsa03020	RNA polymerase	0,00083

5.2 Сравнение тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмы

При сравнении групп ТЧБА и ТРБА определены 11 биологических процессов и 9 молекулярных функций, ассоциированных с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА (Таблица 40), а также 20 биологических процессов и 5 молекулярных функций, связанных с генами, уровень экспрессии которых снижен у больных тяжелой терапевтически чувствительной астмой (Таблица 41). Гены, ассоциированные с онтологиями, представлены в таблице 42.

Таблица 40

Генные онтологии (биологические процессы и молекулярные функции), ассоциированные с генами, экспрессия которых была повышена в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА

GO.ID	Название процесса	p
Биологические процессы		
GO:0046854	phosphatidylinositol phosphorylation	0,0018

GO:0048015	phosphatidylinositol-mediated signaling	0,0053
GO:0019370	leukotriene biosynthetic process	0,0273
GO:0030149	sphingolipid catabolic process	0,0273
GO:0046949	fatty-acyl-CoA biosynthetic process	0,0273
GO:0045776	negative regulation of blood pressure	0,0273
GO:0009395	phospholipid catabolic process	0,0327
GO:0034080	CENP-A containing nucleosome assembly at centromere	0,0354
GO:0010811	positive regulation of cell-substrate adhesion	0,0381
GO:0060041	retina development in camera-type eye	0,0487
GO:0030101	natural killer cell activation	0,0487
Молекулярные функции		
GO:0045028	G-protein coupled purinergic nucleotide receptor activity	0,0010
GO:0004428	inositol or phosphatidylinositol kinase activity	0,0023
GO:0016702	oxidoreductase activity, acting on single donors with incorporation of molecular oxygen, incorporation of two atoms of oxygen	0,0073
GO:0016773	phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	0,0191
GO:0042169	SH2 domain binding	0,0326
GO:0042809	vitamin D receptor binding	0,0384
GO:0005518	collagen binding	0,0442
GO:0033764	steroid dehydrogenase activity, acting on the CH-OH group of donors, NAD or NADP as acceptor	0,0442
GO:0008235	metalloexopeptidase activity	0,0470

Генные онтологии (биологические процессы и молекулярные функции), ассоциированные с генами, экспрессия которых была снижена в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА

GO.ID	Название процесса	p
Биологические процессы		
GO:0007043	cell-cell junction assembly	0,0051
GO:0006790	sulfur compound metabolic process	0,0054
GO:0007399	nervous system development	0,0170
GO:0051707	response to other organism	0,0203
GO:0050982	detection of mechanical stimulus	0,0366
GO:0045909	positive regulation of vasodilation	0,0366
GO:0046128	purine ribonucleoside metabolic process	0,0366
GO:0010454	negative regulation of cell fate commitment	0,0366
GO:0009225	nucleotide-sugar metabolic process	0,0366
GO:0010002	cardioblast differentiation	0,0366
GO:0030204	chondroitin sulfate metabolic process	0,0366
GO:0002026	regulation of the force of heart contraction	0,0366
GO:0010165	response to X-ray	0,0402
GO:0014003	oligodendrocyte development	0,0402
GO:0042659	regulation of cell fate specification	0,0402
GO:0006040	amino sugar metabolic process	0,0402
GO:0006700	C21-steroid hormone biosynthetic process	0,0438
GO:0046326	positive regulation of glucose import	0,0438
GO:0008209	androgen metabolic process	0,0438
GO:0007398	ectoderm development	0,0474
Молекулярные функции		

GO:0016798	hydrolase activity, acting on glycosyl bonds	0,026
GO:0015020	glucuronosyltransferase activity	0,037
GO:0004872	receptor activity	0,038
GO:0045296	cadherin binding	0,040
GO:0048306	calcium-dependent protein binding	0,047

Таблица 42

Гены, ассоциированные с онтологиями (биологические процессы и молекулярные функции) в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА

ID	Символ гена	Название гена	p
GO:0019370 - leukotriene biosynthetic process (+)			
7908779	RNPEP	arginyl aminopeptidase (aminopeptidase B)	0,0407
GO:0030101- natural killer cell activation (+)			
8039871	KIR3DS1	killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, short cytoplasmic tail, 1	0,041
GO:0006700 – C21-steroid hormone biosynthetic process (-)			
7938390	ADM	adrenomedullin	0,027

С помощью анализа генных онтологий установлены биологические процессы и молекулярные функции, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

К одному из таких биологических процессов можно отнести «биосинтез лейкотриенов» (GO:0019370 - leukotriene biosynthetic process, $p=0,0273$), который связан с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТЧБА в сравнении с резистентной формой.

По результатам нашего исследования эта генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии гена *RNPEP*, кодирующего экзопептидазу, которая

гидролизует лейкотриен А4 в лейкотриен В4, который опосредует хемотаксис, экссудацию плазмы, бронхоспазм [198].

С учетом доказанной роли лейкотриенов в патогенезе астмы вероятное изменение активности этого биологического процесса теоретически может вносить вклад в формирование тяжести болезни. Необходимо отметить, что данная генная онтология также ассоциирована с генами, экспрессия которых повышена в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой.

К ассоциированным с патогенезом астмы биологическим процессам можно отнести и «активацию НК» (GO:0030101- natural killer cell activation, $p=0,0487$). По данным нашего исследования эта генная онтология ассоциирована с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТЧБА в сравнении с резистентной формой.

Этот биологический процесс ассоциирован с увеличением экспрессии гена *KIR3DS1*, кодирующего иммуноглобулин-подобный рецептор НК для HLA-C аллелей.

Клетки НК являются компонентом врожденного иммунитета и играют роль эффекторов цитотоксичности в отношении опухолевых клеток, бактерий, вирусов и паразитов. Для реализации своих функций они не требуют предварительной сенситизации [201]. В интактных тканях НК находятся в неактивном состоянии, после активации НК способны синтезировать и высвободить широкий спектр преимущественно провоспалительных цитокинов ИФН- γ , ИЛ-5, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-22, ФНО, ГМ-КСФ, RANTES и другие.

На моделях астмы у животных показано, что присутствие НК необходимо не только для развития аллерген-индуцированной гиперреактивности бронхов, но и для разрешения воспалительного процесса в бронхах [94, 163].

Возможная роль НК в патогенезе астмы у человека подтверждается регистрацией этих клеток в легких у пациентов с плохо контролируемым течением болезни. Так, в БАЛ пациентов с тяжелой астмой зарегистрировано статистически значимое повышение количества НК [241]. Максимальную цитотоксическую активность НК проявляют в присутствии нейтрофилов, которые

являются основной эффекторной клеткой при тяжелой форме болезни по данным многочисленных исследований [236, 238, 229]. Таким образом, у данных пациентов основной причиной неконтролируемого течения болезни могут быть Th2 независимые факторы, такие как вирусные инфекции, загрязнение воздуха и физическая нагрузка.

Среди молекулярных функций, ассоциированных с генами, экспрессия которых повышена в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА, по данным нашего исследования, не зарегистрировано генных онтологий, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

С помощью анализа генных онтологий установлены биологические процессы, ассоциированные с генами, экспрессия которых понижена в группе ТЧБА в сравнении с резистентной формой болезни.

К одной из таких онтологий, вероятно, можно отнести процесс «биосинтеза С21-стероидных гормонов» (GO:0006700 - C21-steroid hormone biosynthetic process, $p=0,0438$), который ассоциирован с генами, экспрессия которых снижена при ТЧБА в сравнении ТРБА.

К С21-стероидам, принадлежат гестагенные гормоны (прогестерон) и кортикостероиды (кортикостерон, кортизол, альдостерон).

Вероятное снижение активности этого биологического процесса в группе ТЧБА может быть следствием угнетения эндогенной секреции кортикостероидов на фоне получения высоких доз ИКС и сохраненной чувствительности ГКР [276].

Напротив, на фоне вероятного снижения при терапевтически чувствительной форме болезни, в группе резистентных пациентов можно предположить увеличение активности процессов, характеризуемых этой генной онтологией. В данном случае этот феномен может быть обусловлен наличием молекулярных механизмов формирования резистентности к глюкокортикоидам (дефект связывания с лигандом, нарушение ядерной транслокации, альтернативный сплайсинг рецепторов) [223, 156].

Однако в нашем исследовании эта генная онтология ассоциирована только со снижением экспрессии гена *ADM*, кодирующего гипотензивный и вазодилатирующий пептид адrenomедуллин.

Среди KEGG путей не зарегистрировано процессов, которые могут быть теоретически ассоциированы с формированием тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию (Таблица 43).

Таблица 43

KEGG пути, ассоциированные с генами, экспрессия которых изменена при сравнении больных с ТЧБА и ТРБА

KEGG ID	Название пути	p
Повышение экспрессии		
hsa00790	Folate biosynthesis	0,02376
Снижение экспрессии		
hsa00532	Glycosaminoglycan biosynthesis - chondroitin sulfate	0,01139
hsa00030	Pentose phosphate pathway	0,01690
hsa00760	Nicotinate and nicotinamide metabolism	0,01690
hsa04744	Phototransduction	0,01937
hsa05150	Staphylococcus aureus infection	0,01982

5.3 Сравнение тяжелой терапевтически резистентной и легкой БА

При сравнении групп ТРБА и легкой астмы определены 9 биологических процессов и 6 молекулярных функций, ассоциированных с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТРБА в сравнении с легкой БА (Таблица 44), а также 20 биологических процессов и 20 молекулярных функций, связанных с генами, уровень экспрессии которых снижен у больных ТРБА по сравнению с больными легкой астмой (Таблица 45). Гены, ассоциированные с онтологиями, представлены в таблице 46.

Генные онтологии (биологические процессы и молекулярные функции), ассоциированные с генами, экспрессия которых была повышена в группе ТРБА в сравнении с легкой БА

GO.ID	Название процесса	p
Биологические процессы		
GO:0006807	nitrogen compound metabolic process	0,0014
GO:0031295	T cell costimulation	0,0045
GO:0030832	regulation of actin filament length	0,0055
GO:0006805	xenobiotic metabolic process	0,0112
GO:0006767	water-soluble vitamin metabolic process	0,0130
GO:0046483	heterocycle metabolic process	0,0133
GO:0010951	negative regulation of endopeptidase activity	0,0253
GO:0046164	alcohol catabolic process	0,0274
GO:0006955	immune response	0,0454
Молекулярные функции		
GO:0016811	hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds, in linear amides	0,0087
GO:0016765	transferase activity, transferring alkyl or aryl (other than methyl) groups	0,0328
GO:0005529	sugar binding	0,0355
GO:0005198	structural molecule activity	0,0379
GO:0032561	guanyl ribonucleotide binding	0,0390
GO:0004867	serine-type endopeptidase inhibitor activity	0,0479

Генные онтологии (биологические процессы и молекулярные функции), ассоциированные с генами, экспрессия которых была снижена в группе ТРБА в сравнении с легкой БА

GO.ID	Название процесса	p
Биологические процессы		
GO:0050852	T cell receptor signaling pathway	0,00020
GO:0007155	cell adhesion	0,00024
GO:0007165	signal transduction	0,00057
GO:0031295	T cell costimulation	0,00075
GO:0050863	regulation of T cell activation	0,00122
GO:0032653	regulation of interleukin-10 production	0,00190
GO:0045058	T cell selection	0,00243
GO:0042993	positive regulation of transcription factor import into nucleus	0,00269
GO:0007596	blood coagulation	0,00379
GO:0019320	hexose catabolic process	0,00446
GO:0032655	regulation of interleukin-12 production	0,00641
GO:0007204	elevation of cytosolic calcium ion concentration	0,00706
GO:0050731	positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	0,00985
GO:0032869	cellular response to insulin stimulus	0,01114
GO:0046635	positive regulation of alpha-beta T cell activation	0,01176
GO:0032729	positive regulation of interferon-gamma production	0,01285
GO:0046854	phosphatidylinositol phosphorylation	0,01446
GO:0042102	positive regulation of T cell proliferation	0,01598
GO:0006959	humoral immune response	0,01786
GO:0043200	response to amino acid stimulus	0,01800
Молекулярные функции		
GO:0005070	SH3/SH2 adaptor activity	0,00079
GO:0047485	protein N-terminus binding	0,00084

GO:0016493	C-C chemokine receptor activity	0,00116
GO:0004428	inositol or phosphatidylinositol kinase activity	0,00165
GO:0045028	G-protein coupled purinergic nucleotide receptor activity	0,00245
GO:0032947	protein complex scaffold	0,00366
GO:0005044	scavenger receptor activity	0,00366
GO:0016773	phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	0,00482
GO:0019901	protein kinase binding	0,00496
GO:0042803	protein homodimerization activity	0,00712
GO:0002020	protease binding	0,01045
GO:0005484	SNAP receptor activity	0,01619
GO:0022838	substrate-specific channel activity	0,02024
GO:0004702	receptor signaling protein serine/threonine kinase activity	0,02163
GO:0031625	ubiquitin protein ligase binding	0,02269
GO:0030374	ligand-dependent nuclear receptor transcription coactivator activity	0,02361
GO:0019903	protein phosphatase binding	0,02567
GO:0008134	transcription factor binding	0,02925
GO:0015026	coreceptor activity	0,03106
GO:0042169	SH2 domain binding	0,03538

Таблица 46

Гены, ассоциированные с онтологиями (биологические процессы и молекулярные функции) в группе ТРБА в сравнении с легкой БА

ID	Символ гена	Название гена	p
GO:0031295 - T cell costimulation (+)			
8033248	TNFSF14	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14	0,00158

8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	0,00500
GO:0006805 - xenobiotic metabolic process (+)			
8166925	MAOA	monoamine oxidase A	0,00269
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	0,00275
7934755	MAT1A	methionine adenosyltransferase I, alpha	0,00767
GO:0006955 - immune response (+)			
8033248	TNFSF14	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14	0,00158
7953749	CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D	0,00186
8044049	IL18RAP	interleukin 18 receptor accessory protein	0,00324
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	0,00500
8095697	CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)	0,00771
7899528	OPRD1	opioid receptor, delta 1	0,00827
GO:0050852 - T cell receptor signaling pathway (-)			
7994541	LAT	linker for activation of T cells	0,000199
8043725	ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	0,001184
8068788	UBASH3A	ubiquitin associated and SH3 domain containing A	0,002246
8178199	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,002733
8179489	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,002733
7949465	RELA	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (avian)	0,003876
8016414	SKAP1	src kinase associated phosphoprotein 1	0,004741
7922040	CD247	CD247 molecule	0,007409
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,007938
GO:0031295 - T cell costimulation (-)			
7940409	CD5	CD5 molecule	0,00131

8178199	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,00273
8179489	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,00273
7922040	CD247	CD247 molecule	0,00741
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,00794
8056222	DPP4	dipeptidyl-peptidase 4	0,00867
8047677	CD28	CD28 molecule	0,00915
GO:0050863 - regulation of T cell activation (-)			
7994541	LAT	linker for activation of T cells	0,000199
7924760	ITPKB	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B	0,000899
8043725	ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	0,001184
7940409	CD5	CD5 molecule	0,001310
8161017	SIT1	signaling threshold regulating transmembrane adaptor 1	0,001572
8178199	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,002733
8179489	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,002733
8137257	GIMAP5	GTPase, IMAP family member 5	0,003975
7904287	CD2	CD2 molecule	0,004792
8044133	NCK2	NCK adaptor protein 2	0,006092
8136727	IL23A	interleukin 23, alpha subunit p19	0,007019
7922040	CD247	CD247 molecule	0,007409
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,007938
8056222	DPP4	dipeptidyl-peptidase 4	0,008672
8047677	CD28	CD28 molecule	0,009148
GO:0032653 - regulation of interleukin-10 production (-)			
8170187	CD40LG	CD40 ligand	0,00131
8040365	TRIB2	tribbles homolog 2 (Drosophila)	0,00308

8136727	IL23A	interleukin 23, alpha subunit p19	0,00702
GO:0045058 - T cell selection (-)			
7924760	ITPKB	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B	0,000899
8043725	ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	0,001184
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,007938
GO:0032655 - regulation of interleukin-12 production (-)			
8170187	CD40LG	CD40 ligand	0,00131
7949465	RELA	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (avian)	0,00388
8136727	IL23A	interleukin 23, alpha subunit p19	0,00702
GO:0046635 - positive regulation of alpha-beta T cell activation (-)			
7924760	ITPKB	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B	0,000899
8137257	GIMAP5	GTPase, IMAP family member 5	0,003975
8136727	IL23A	interleukin 23, alpha subunit p19	0,007019
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,007938
GO:0032729 - positive regulation of interferon-gamma production (-)			
8170187	CD40LG	CD40 ligand	0,00131
8136727	IL23A	interleukin 23, alpha subunit p19	0,00702
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,00794
GO:0042102 - positive regulation of T cell proliferation (-)			
8044133	NCK2	NCK adaptor protein 2	0,00609
8136727	IL23A	interleukin 23, alpha subunit p19	0,00702
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,00794
8047677	CD28	CD28 molecule	0,00915
GO:0006959 - humoral immune response (-)			
8084717	ST6GAL1	ST6 beta-galactosamide alpha-2,6-sialyltransferase 1	0,00165

8137257	GIMAP5	GTPase, IMAP family member 5	0,00397
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,00899
8047677	CD28	CD28 molecule	0,00915
GO:0016493 - C-C chemokine receptor activity (-)			
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,000261
8078888	CCR8	chemokine (C-C motif) receptor 8	0,002748
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,008991

С помощью анализа генных онтологий установлены биологические процессы и молекулярные функции, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

К одному из таких биологических процессов можно отнести «костимуляцию Т-клеток» (GO:0031295 – T cell costimulation, $p=0,0045$), связанный с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТРБА в сравнении с легкой астмой. Этот процесс характеризует предоставление второго антигеннезависимого сигнала для активации Т-клеток.

По результатам нашего исследования эта генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии генов *TNFSF14* и *HLA-DQB1*.

Ген *TNFSF14* кодирует протеин из семейства ФНО, который стимулирует пролиферацию Т-клеток, является триггером для активации апоптоза в различных опухолевых клетках, активирует NF- κ B.

Ген *HLA-DQB1* кодирует одну из молекул главного комплекса гистосовместимости класса II (Major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1) и играет ключевую роль в процессе презентации антигена на поверхности антигенпрезентирующих клеток. Также как и для гена *HLA-DQA1* в целом ряде исследований продемонстрирована ассоциация полиморфизмов этого гена с предрасположенностью к астме и уровнем продукции сывороточного IgE [64, 280, 60, 168].

Другим биологическим процессом, вероятно, ассоциированным с патогенезом астмы, является «метаболизм ксенобиотиков» (GO:0006805 - xenobiotic metabolic process, $p=0,0112$), который связан с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТРБА в сравнении с легкой астмой.

Данная генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии таких генов как *MAOA*, *GSTM1*, *MAT1A*. Необходимо отметить, что ген *GSTM1* в аналогичной генной онтологии зарегистрирован при сравнении ТЧБА и легкой БА.

Ген *MAOA* кодирует фермент моноаминоксидазу, играющую важную роль в метаболизме нейроактивных и вазоактивных аминов в центральной нервной системе и периферических тканях – таких как допамин, серотонин и адреналин. Нарушение регуляции этого фермента ассоциировано с развитием депрессии и дефицитом внимания [98, 67]. Считается доказанным, что депрессивные расстройства и панические атаки регистрируются у 70% пациентов с тяжелой формой заболевания, однако в течение длительного времени в качестве ведущего патогенетического звена этого явления рассматривалась гипоксия [218, 68].

Еще одним биологическим процессом, ассоциированным с механизмами астмы, является «иммунный ответ» (GO:0006955 - immune response, $p=0,0454$), связанный с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТРБА в сравнении с легкой астмой.

По данным нашего исследования эта генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии генов *TNFSF14*, *CLEC4D*, *IL18RAP*, *HLA-DQB1*, *CXCL1*, *OPRD1*.

Повышенная экспрессия генов *TNFSF14* и *HLA-DQB1* также ассоциирована с биологическим процессом костимуляции Т-клеток. Функция белковых продуктов других генов, ассоциированных с данной генной онтологией, также может иметь отношение к механизмам воспаления.

Так ген *CLEC4D* кодирует внутриклеточный рецептор, который, вероятно, играет роль в распознавании инфекционного антигена, его процессинге и презентации Т-клеткам. Ген *IL18RAP* кодирует субъединицу рецептора ИЛ-18,

присутствие которой увеличивает связывающую активность рецептора. В то время как ИЛ-18 играет важную роль в поляризации Т-клеток и индуцирует продукцию синтеза провоспалительных цитокинов – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9 и ИЛ-13 Т-клетками, тучными клетками, базофилами и НК [194]. Также присутствие этого ИЛ является необходимым условием для созревания клеток Th2 ряда, продукции IgE и дифференцировки Th17 клеток.

Ген *CXCL1* кодирует хемокин, который играет важную роль в воспалении, являясь хемоаттрактантом нейтрофилов. Увеличение экспрессии этого гена, может быть одним из компонентов формирования нейтрофильного паттерна воспаления при тяжелой форме БА [236, 238, 229].

Среди молекулярных функций, ассоциированных с генами, экспрессия которых повышена в группе ТРБА в сравнении с легкой БА, по данным нашего исследования, не зарегистрировано онтологий, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

С помощью анализа генных онтологий установлены биологические процессы и молекулярные функции, ассоциированные с генами, экспрессия которых понижена в группе ТРБА в сравнении с легкой астмой.

Так, зарегистрирован целый ряд биологических процессов, относящихся к регуляции Т-клеток, которые связаны с генами, уровень экспрессии которых снижен в группе ТРБА в сравнении с легкой астмой. По результатам нашего исследования к таким генным онтологиям относятся: «сигнальный путь рецепторов Т-клеток» (GO:0050852 - T cell receptor signaling pathway, $p=0,0002$), «костимуляция Т-клеток» (GO:0031295 -T cell costimulation, $p=0,00075$), «регуляция активации Т-клеток» (GO:0050863 -regulation of T cell activation, $p=0,00122$), «селекция Т-клеток» (GO:0045058 -T cell selection, $p=0,00243$), «положительная регуляция активации альфа-бета Т-клеток» (GO:0046635 - positive regulation of alpha-beta T cell activation, $p =0,01176$), «положительная регуляция пролиферации Т-клеток» (GO:0042102 - positive regulation of T cell proliferation, $p=0,01598$). Гены, ассоциированные с онтологиями, представлены в таблице 46.

Проведенный анализ функции генов, ассоциированных с данными генными онтологиями, не выявил блокаторов данных биологических процессов, что позволяет охарактеризовать данные процессы как сниженные в группе ТРБА в сравнении с легкой формой болезни.

Исключение представляет онтология «костимуляции Т-клеток» (GO:0031295 - T cell costimulation, $p=0,00075$). По результатам нашего исследования этот процесс ассоциирован с увеличением экспрессии генов *TNFSF14* и *HLA-DQB1*, а также ассоциирован со снижением экспрессии генов *CD5*, *HLA-DQA1*, *CD247*, *CD3E*, *DPP4*, *CD28*. Все эти гены, за исключением *HLA-DQA1*, кодируют сигнальные протеины, являющиеся адаптерными для процессов активации, пролиферации и проведения сигналов Т-клеток.

Другими биологическими процессами, вероятно, имеющими отношение к формированию воспаления при астме, являются «регуляция продукции ИЛ-10» (GO:0032653 - regulation of interleukin-10 production, $p=0,00190$), «регуляция продукции ИЛ-12» (GO:0032655 - regulation of interleukin-12 production, $p=0,00641$) и «положительная регуляция продукции ИФН- γ » (GO:0032729 - positive regulation of interferon-gamma production, $p=0,01285$).

Данные генные онтологии, ассоциированы с генами, уровень экспрессии которых снижен в группе ТРБА в сравнении с легкой астмой.

По данным нашего исследования эти биологические процессы ассоциированы со снижением экспрессии генов *CD40LG*, *IL23A*, *TRIB2*, *RELA*, *CD3E*, два из которых (*CD40LG* и *IL23A*) являются общими для трех онтологий. Анализ функции этих генов не выявил блокаторов данных биологических процессов, что позволяет охарактеризовать эти процессы как сниженные в группе ТРБА в сравнении с легкой формой болезни.

Еще одним биологическим процессом, ассоциированным с механизмами астмы, является «гуморальный иммунный ответ» (GO:0006959 - humoral immune response, $p=0,01786$), который связан с генами, уровень экспрессии которых снижен в группе ТРБА в сравнении с легкой формой болезни.

Этот биологический процесс ассоциирован со снижением экспрессии генов, которые вовлечены в процессы регуляции активации, миграции, индукции и дифференцировки Т-клеток: *ST6GAL1*, *GIMAP5*, *CCR6*, *CD28*.

Таким образом, у больных ТРБА в сравнении с легкой БА оказались сниженными преимущественно биологические процессы, характеризующие регуляцию, селекцию и пролиферацию Т-клеток.

По результатам данного исследования зарегистрированы KEGG пути, ассоциированные с генами, уровень экспрессии которых различался при сравнении тяжелой терапевтически резистентной и легкой астмы (Таблица 47).

Таблица 47

KEGG пути, ассоциированные с генами, экспрессия которых изменена при сравнении больных с ТРБА и легкой БА

KEGG ID	Название пути	p
Повышение экспрессии		
hsa00360	Phenylalanine metabolism	0,00120
hsa00770	Pantothenate and CoA biosynthesis	0,01554
hsa05310	Asthma	0,01789
hsa00030	Pentose phosphate pathway	0,03730
hsa00052	Galactose metabolism	0,03730
hsa04744	Phototransduction	0,04253
hsa00982	Drug metabolism - cytochrome P450	0,04335
Снижение экспрессии		
hsa04660	T cell receptor signaling pathway	<0,00001
hsa04514	Cell adhesion molecules (CAMs)	0,00029
hsa04130	SNARE interactions in vesicular transport	0,00295
hsa05340	Primary immunodeficiency	0,00358

hsa05330	Allograft rejection	0,00434
hsa04672	Intestinal immune network for IgA production	0,00463
hsa04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	0,00650
hsa04710	Circadian rhythm - mammal	0,00667
hsa01040	Biosynthesis of unsaturated fatty acids	0,00749
hsa05310	Asthma	0,00814
hsa05320	Autoimmune thyroid disease	0,00878
hsa00052	Galactose metabolism	0,00931
hsa00534	Glycosaminoglycan biosynthesis - heparan sulfate	0,00931
hsa04140	Regulation of autophagy	0,01617
hsa04640	Hematopoietic cell lineage	0,02014
hsa05130	Pathogenic Escherichia coli infection	0,02352
hsa05416	Viral myocarditis	0,02356
hsa04110	Cell cycle	0,02448
hsa00514	Other types of O-glycan biosynthesis	0,02875
hsa04940	Type I diabetes mellitus	0,03100
hsa05332	Graft-versus-host disease	0,03100
hsa05212	Pancreatic cancer	0,03237
hsa05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	0,03600
hsa05220	Chronic myeloid leukemia	0,03819
hsa04070	Phosphatidylinositol signaling system	0,04131
hsa05145	Toxoplasmosis	0,04217
hsa05323	Rheumatoid arthritis	0,04218
hsa04962	Vasopressin-regulated water reabsorption	0,04525

Всего установлено 4 таких пути: «астма» (hsa05310 – Asthma, $p=0,01789$), «метаболизм лекарств – цитохром P450» (hsa00982 - Drug metabolism - cytochrome

P450, $p=0,04335$), «сигнальные пути рецепторов Т-клеток» (hsa04660 - T cell receptor signaling pathway, $p<0,00001$), «взаимодействие цитокинов с цитокиновыми рецепторами» (hsa04060 - Cytokine-cytokine receptor interaction, $p=0,00650$).

В составе KEGG пути «астма», генами, уровень экспрессии которых был увеличен, являлись *RNASE3* и *HLA-DQB1*, а генами, экспрессия которых оказалась сниженной – *HLA-DQA1* (8179489 и 8178199) и *CD40LG* (Таблица 48).

Таблица 48

Гены, ассоциированные с KEGG путями в группе
ТРБА в сравнении легкой БА

ID	Символ гена	Название гена
hsa05310 – Asthma, $p=0,01789$ (+)		
7973105	RNASE3	ribonuclease, RNase A family, 3
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
hsa00982 - Drug metabolism - cytochrome P450, $p=0,04335$ (+)		
8166925	MAOA	monoamine oxidase A
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1
hsa04660 - T cell receptor signaling pathway, $p<0,00001$ (-)		
7922040	CD247	CD247 molecule
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)
8043725	ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa
8047677	CD28	CD28 molecule
7949465	RELA	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (avian)
7994541	LAT /// SPNS1	linker for activation of T cells /// spinster homolog 1 (Drosophila)
8044133	NCK2	NCK adaptor protein 2

8170187	CD40LG	CD40 ligand
hsa04060 - Cytokine-cytokine receptor interaction, p=0,00650 (-)		
7944152	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha
8075886	IL2RB	interleukin 2 receptor, beta
8030339	FLT3LG	fms-related tyrosine kinase 3 ligand
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6
8078888	CCR8	chemokine (C-C motif) receptor 8
8056005	ACVR1	activin A receptor, type I
8136727	TRBV27 /// TRBC1	T cell receptor beta variable 27 /// T cell receptor beta constant 1
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4
8170187	CD40LG	CD40 ligand
8173493	CXCR3	chemokine (C-X-C motif) receptor 3
hsa05310 – Asthma, p=0,00814 (-)		
8179489	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1
8170187	CD40LG	CD40 ligand
8178199	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1

Разнонаправленное изменение уровня экспрессии генов, кодирующих белки главного комплекса гистосовместимости класса II, DQA1 (снижение экспрессии) и DQB1 (повышение экспрессии) также зарегистрировано в составе различных генных онтологий, описанных ранее в данном разделе.

Главный комплекс гистосовместимости представляет собой большую группу генов, играющих ключевую роль в иммунном ответе и обеспечивающих, прежде всего, презентацию антигена иммунокомпетентным клеткам.

Белковые продукты генов *HLA-DQA1* и *HLA-DQB1*, соединяясь вместе, формируют функциональный белковый комплекс – антигенсвязывающий DQ $\alpha\beta$ гетеродимер (antigen-binding DQ $\alpha\beta$ heterodimer), который и осуществляет презентацию чужеродных пептидов иммунной системе. В этой связи дисбаланс

экспрессии единиц DQA1 и DQB1, теоретически, может вносить вклад в формирование тяжести течения болезни.

Путь KEGG «метаболизм лекарств – цитохром P450» ассоциирован с генами, уровень экспрессии которых увеличен – *MAOA* и *GSTM1*.

Повышенный уровень экспрессии гена *GSTM1* зарегистрирован в составе одной из генных онтологий при сравнении ТЧБА и легкой БА, а также в составе GO-процессов при сравнении ТРБА и легкой БА. В то время как повышение экспрессии гена *MAOA* зарегистрировано только в группе ТРБА в сравнении с легкой БА.

Повышение ферментативной активности продуктов этих генов может вносить вклад в ускорение метаболизма лекарственных препаратов и сокращению времени циркуляции активных компонентов.

К другим KEGG путям, вероятно, имеющим отношение к формированию тяжести болезни и терапевтической резистентности, можно отнести «сигнальные пути рецепторов Т-клеток» и «взаимодействие цитокинов с цитокиновыми рецепторами». Данные пути ассоциированы с генами, экспрессия которых снижена, а перечень, ассоциированных с ними генов, практически полностью совпадает с генными онтологиями, характеризующими регуляцию, селекцию и пролиферацию Т-клеток в данном контрасте.

Резюме

Таким образом, при сравнении больных с ТЧБА и легкой БА определены генные онтологии, характеризующие функциональные изменения, способные вносить вклад в формирование тяжести болезни и ответа на фармакотерапию астмы. Установлено повышение активности таких биологических процессов как метаболизм ксенобиотиков и сульфатирование. Высокая активность этих онтологий может быть причиной укорочения периода полувыведения лекарственных препаратов, обуславливая недостаточную эффективность терапии в стандартных терапевтических дозировках. Подтверждение этих данных может стать обоснованием для изменения назначаемых объемов терапии и изменения

режима приема препаратов у пациентов с тяжелой формой болезни. Показано снижение активности генов, ассоциированных такими процессами как «сигнальный путь интерферона 1 типа» и «ответ на вирус» у пациентов с ТЧБА в сравнении с легкой астмой. Данный феномен может лежать в основе предрасположенности пациентов данной группы к вирусным инфекциям, которые являются одной из частых причин неконтролируемого течения болезни и частых обострений. Оказался ослабленным и такой важный биологический процесс, относящийся к механизмам астмы, как «регуляция программируемой клеточной гибели», что может лежать в основе формирования терапевтической резистентности вне зависимости от преобладания эффекторной клетки (эозинофил или нейтрофил).

При сравнении больных с тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной формой болезни выявлены несколько процессов и функций, изменение которых способны вносить вклад в формирование тяжести болезни и ответа на фармакотерапию астмы. Одним из наиболее значимых биологических процессов в данном аспекте является «активация натуральных киллеров». Активность этого процесса с учетом изменения экспрессии, ассоциированного с ней гена, оказалась повышенной в группе ТЧБА, что может свидетельствовать о ее снижении в группе ТРБА. Таким образом, одним из компонентов формирования терапевтической резистентности при БА может являться недостаточная активность НК, вследствие снижения экспрессии иммуноглобулин-подобного рецептора НК, на фоне повышения их общего количества.

При сравнении больных ТРБА и легкой БА определены биологические процессы и молекулярные функции, а также KEGG пути, изменение активности которых способны вносить вклад в формирование тяжести болезни и ответа на фармакотерапию астмы. Необходимо отметить, что результат, в случае сравнения этих групп, отличался от других большим количеством генных онтологий и ассоциированных с ними генов, различающихся в группе тяжелой резистентной и легкой формой болезни. Всего можно выделить 3 наиболее значимых функциональных направления изменения биологических процессов и KEGG

путей. Путь KEGG "Метаболизм лекарств – цитохром P450" и биологический процесс метаболизма ксенобиотиков, ассоциированные с увеличением уровня экспрессии генов в группе ТРБА в сравнении с легкой БА. Путь KEGG "Астма" и биологический процесс "иммунный ответ". Биологический процесс "иммунный ответ" (GO:0006955) по результатам нашего исследования, ассоциирован с увеличением экспрессии генов, ответственных за кодирование компонентов провоспалительного каскада (CLEC4D - кодирует субъединицу рецептора IL-18, присутствие которой увеличивает связывающую активность рецептора) и хемоаттрактанта нейтрофилов (ген CXCL1 кодирует хемокин семейства CXС), что может лежать в основе персистенции воспаления и формирования нейтрофильного паттерна воспаления при тяжелой форме БА. В KEGG пути "Астма" зарегистрировано разнонаправленное изменение экспрессии генов, кодирующих компоненты антиген-связывающего гетеродимера DQ $\alpha\beta$, что может быть причиной нарушения иммунного ответа при тяжелой форме болезни. Также зарегистрирован целый ряд биологических процессов и один KEGG путь, относящихся к регуляции Т-клеток, которые связаны с генами, уровень экспрессии которых снижен в группе ТРБА в сравнении с легкой астмой. Такая характеристика изменения экспрессии генов, ассоциированных с данными генными онтологиями, может свидетельствовать о нарушении регуляции и/или недостаточной функциональной активности Т-клеточного звена при резистентной форме заболевания.

Глава 6. Характеристика динамики генной экспрессии при тяжелой бронхиальной астме в течение лечебного периода

С целью оценки динамики генной экспрессии в течение лечебного периода для определения молекулярно-генетических механизмов формирования терапевтической резистентности проведен кластерный анализ временных рядов. В ходе проведенного анализа для каждой из сравниваемых групп проанализировано 5000 наиболее изменчивых генов, которые в результате определения общих закономерностей изменения экспрессии во времени сформировали 9 кластеров. Также в ходе анализа оценена связь между кластерами в пределах одной группы сравнения.

6.1 Функциональная характеристика генных кластеров

Для анализа функциональной характеристики генов, входящих в кластеры, характеризующие временную динамику генной экспрессии, проведен анализ генных онтологий (биологические процессы и молекулярные функции) и KEGG путей.

В данном разделе представлено описание генных онтологий и KEGG путей со статистической значимостью $p < 0,05$, которые могут лежать в основе формирования тяжести БА и определять ответ на фармакотерапию.

6.1.1 Кластеры генов для легкой БА

Для генов, входящих в состав первого кластера, установлено 20 биологических процессов и 13 молекулярных функций. Их них 2 биологических процесса были статистически значимыми и вероятно связанными с механизмами БА: «положительная регуляция анти-апоптоза» (GO:0045768 – positive regulation of anti-apoptosis, $p=0,00834$) и «негативная регуляция врожденного иммунного ответа» (GO:0045824 – negative regulation of innate immune response, $p=0,03957$).

Для генов, вошедших во второй кластер, выделены 8 KEGG путей, 20 биологических процессов и 20 молекулярных функций. Однако среди них не

зарегистрировано онтологий или путей, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

Для генов, вошедших в третий кластер, установлено 4 KEGG пути, 20 биологических процессов и 11 молекулярных функций, среди которых только процесс «регуляция острого воспалительного ответа» (GO:0002673 – regulation of acute inflammatory response, $p=0,0136$) может иметь отношение к механизмам БА.

Четвертый кластер включал в себя гены, которые участвуют в 20 биологических процессах и 13 генных молекулярных функциях, две из которых, вероятно, ассоциированы с механизмами астмы: «регуляция сигнального пути ИФН 1 типа» (GO:0060338 – regulation of type I interferon-mediated signaling pathway, $p=0,01214$) и «сульфатирование» (GO:0051923 – sulfation, $p=0,01941$).

В состав пятого кластера вошли гены, вовлеченные в 26 KEGG путей, 20 биологических процессов и 7 молекулярных функций. В данном кластере зарегистрированы 2 KEGG пути и 7 биологических процессов, теоретически ассоциированных с механизмами астмы. Среди KEGG путей к ним можно отнести путь «астма» (hsa05310 – Asthma, $p<0,00001$) и «процессинг и презентация антигена» (hsa04612 – Antigen processing and presentation, $p=0,00011$), а среди генных онтологий – следующие биологические процессы: «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p<0,00001$), «процессинг антигена и презентация пептида или полисахарида посредством главного комплекса гистосовместимости класса II» (GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, $p<0,00001$), «сигнальный путь ИФН- γ » (GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, $p<0,00001$), «сигнальный путь рецепторов Т-клеток» (GO:0050852 – T cell receptor signaling pathway, $p<0,00001$), «процессинг антигена и презентация экзогенного пептида посредством главного комплекса гистосовместимости класса I» (GO:0042590 и GO:0002479 - antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p<0,00001$), «костимуляция Т-клеток» (GO:0031295 – T cell costimulation, $p<0,00001$) и «регуляция процесса апоптоза» (GO:0042981 – regulation of apoptotic process, $p=0,00012$).

В шестом кластере из 3 KEGG путей, 20 биологических процессов и 17 молекулярных функций не зарегистрировано онтологий, которые, вероятно, могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

В седьмом кластере из 1 KEGG пути, 19 биологических процессов и 16 молекулярных функций, обладающих статистической значимостью, три онтологии могут иметь отношение к механизмам БА: «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p < 0,00001$), «сигнальный путь ИФН- γ » (GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, $p = 0,03433$), «сигнальный путь ИФН I типа» (GO:0060337 – type I interferon-mediated signaling pathway, $p = 0,04379$).

Гены восьмого кластера участвуют в 4 KEGG путях, 20 биологических процессах и 20 молекулярных функциях. К связанным с механизмами БА можно отнести KEGG путь «сигнальный путь рецепторов Т-клеток» (hsa04660 – T cell receptor signaling pathway, $p = 0,01267$), биологические процессы «негативная селекция Т-клеток в тимусе» (GO:0045060 – negative thymic T cell selection, $p = 0,00192$), «сигнальный путь апоптоза» (GO:0008624 – apoptotic signalling pathway, $p = 0,00773$) и молекулярную функцию «активность рецепторов С-С хемокинов» (GO:0016493 – C-C chemokine receptor activity, $p = 0,00042$).

Девятый кластер включал в себя гены, которые вовлечены в 19 KEGG путей, 20 биологических процессов и 20 молекулярных функций. Три биологических процесса данного кластера, вероятно, ассоциированы с механизмами астмы: «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p < 0,00001$), «процессинг антигена и презентация экзогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:000247 – antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p < 0,00001$) и «регуляция процесса апоптоза» (GO:0042981 – regulation of apoptotic process, $p < 0,00001$).

6.1.2 Кластеры генов для тяжелой терапевтически чувствительной БА

Для генов, вошедших в состав первого кластера, установлено 11 KEGG путей, 20 биологических процессов и 20 молекулярных функций. В данном кластере зарегистрированы 2 KEGG пути, 6 биологических процессов и две молекулярные функции, теоретически ассоциированные с механизмами астмы: KEGG пути «цитотоксичность НК» (hsa04650 – Natural killer cell mediated cytotoxicity, $p=0,00385$), «сигнальный путь рецепторов Т-клеток» (hsa04660 - T cell receptor signaling pathway, $p=0,01756$), биологические процессы «регуляция иммунного ответа» (GO:0050776 – regulation of immune response, $p<0,00001$), «регуляция сигнального пути ИФН 1 типа» (GO:0060338 - regulation of type I interferon-mediated signaling pathway, $p=0,00047$), «регуляция пролиферации В-клеток» (GO:0030888 – regulation of B cell proliferation, $p=0,00108$), «негативная регуляция продукции ИЛ-6» (GO:0032715 – negative regulation of interleukin-6 production, $p=0,00158$), «положительная регуляция дифференцировки Т-клеток» (GO:0045582 – positive regulation of T cell differentiation, $p=0,00171$), «активация нейтрофилов» (GO:0042119 – neutrophil activation, $p=0,00178$) и следующие молекулярные функции – «связывание антигена» (GO:0003823 – antigen binding, $p=0,00506$) и «связывание хемокинов» (GO:0019956 – chemokine binding, $p=0,00655$).

Второй кластер включал в себя гены, которые участвуют в 19 KEGG путях, 20 биологических процессах и 20 молекулярных функциях. Вероятно, к связанным с механизмами БА можно отнести KEGG путь – «сигнальный путь В-клеток» (hsa4662 – B cell receptor signaling pathway, $p=0,02356$) и биологические процессы: «процессинг антигена и презентация антигена эндогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, $p<0,00001$), «иммунитет модулируемый нейтрофилами» (GO:0002446 – neutrophil mediated immunity, $p=0,00011$), «негативная регуляция активации CD4 позитивных альфа-бета Т-клеток» (GO:2000515 -negative regulation of CD4-positive, alpha-beta T cell activation, $p= 0,00047$), «негативная регуляция

дифференцировки альфа-бета Т-клеток» (GO:0046639 – negative regulation of alpha-beta T cell differentiation, $p=0,00071$).

В третьем кластере из 4 KEGG путей, 20 биологических процессов и 10 молекулярных функций, обладающих статистической значимостью, четыре биологических процесса, вероятно, могут иметь отношение к механизмам БА: «положительная регуляция хемотаксиса Т-клеток» (GO:0010820 – positive regulation of T cell chemotaxis, $p=0,0350$), «положительная регуляция биосинтеза ФНО» (GO:0042535 – positive regulation of tumor necrosis factor biosynthetic process, $p=0,0350$), «положительная регуляция продукции ИЛ-2» (GO:0032743 – positive regulation of interleukin-2 production, $p=0,0384$), «положительная регуляция хемотаксиса моноцитов» (GO:0090026 – positive regulation of monocyte chemotaxis, $p=0,0384$).

Четвертый кластер включал в себя гены, которые вовлечены в 2 KEGG пути, 20 биологических процессов и 16 молекулярных функций. Из данных онтологий две, вероятно, ассоциированы с механизмами астмы: «метаболизм ксенобиотиков» (GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, $p=0,0351$) и «врожденный иммунный ответ» (GO:0045087 – innate immune response, $p=0,0376$).

В пятом кластере из 5 KEGG путей, 20 биологических процессов и 16 молекулярных функций, обладающих статистической значимостью, только процесс «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p=0,00020$) может иметь отношение к механизмам БА.

Гены, входящие в состав шестого кластера, вовлечены в 20 биологических процессов и 10 молекулярных функций, обладающих статистической значимостью. Вероятно, к связанным с механизмами БА можно отнести биологические процессы: «врожденный иммунный ответ» (GO:0045087 – innate immune response, $p=0,00317$), «регуляция иммунной системы» (GO:0002682 – regulation of immune system process, $p=0,01936$), «метаболизм С21-стероидных гормонов» (GO:0008207 – C21-steroid hormone metabolic process, $p=0,03368$) и «регуляция апоптоза гладкомышечных клеток» (GO:0034391 – regulation of smooth muscle cell apoptotic process, $p=0,04245$).

В седьмом кластере из 3 KEGG путей, 20 биологических процессов и 18 молекулярных функций не зарегистрировано онтологий, которые, вероятно, могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

Для генов, вошедших в состав восьмого кластера, выделен 1 KEGG путь, 20 биологических процессов и 6 молекулярных функций. В данном кластере зарегистрирован 1 KEGG путь, 7 биологических процессов и две молекулярные функции, теоретически ассоциированные с механизмами астмы. К этим онтологиям можно отнести KEGG путь «процессинг и презентация антигена» (hsa4612 -Antigen processing and presentation, $p=0,04517$), биологические процессы «иммунный ответ» (GO:0006955 – immune response, $p=0,00096$), «воспалительный ответ» (GO:0006954 – inflammatory response, $p=0,00151$), «регуляция иммунного ответа» (GO:0050776 - regulation of immune response, $p=0,00282$), «продукция цитокинов» (GO:0001816 – cytokine production, $p=0,00342$), «регуляция программируемой клеточной гибели» (GO:0043067 – regulation of programmed cell death, $p=0,01386$), «активация НК» (GO:0030101 – natural killer cell activation, $p=0,02829$), «хемотаксис» (GO:0006935- chemotaxis, $p=0,04005$) и молекулярные функции – «активность хемокинов» (GO:0008009 - chemokine activity, $p=0,00412$), «активность рецепторов хемокинов» (GO:0004896 - cytokine receptor activity, $p=0,02412$).

Девятый кластер включал в себя гены, которые участвуют в 5 KEGG путях, 20 биологических процессах и 20 молекулярных функциях. Из данных онтологий три, вероятно, ассоциированы с механизмами астмы: «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p<0,00001$), «процессинг антигена и презентация экзогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:0002479- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p=0,00118$), «метаболизм ксенобиотиков» (GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, $p=0,00170$).

6.1.3 Кластеры генов для тяжелой терапевтически резистентной БА

Для генов, входящих в состав первого кластера, установлено 17 KEGG путей, 20 биологических процессов и 20 молекулярных функций. В данном кластере зарегистрирован 1 KEGG путь и 7 биологических процессов, а также 1 молекулярная функция, теоретически ассоциированные с механизмами астмы. К данным онтологиям можно отнести KEGG путь «метаболизм азота» (hsa00910 - Nitrogen metabolism, $p=0,00429$), биологические процессы – «метаболизм лейкотриенов» (GO:0006691 – leukotriene metabolic process, $p<0,00001$), «воспалительный ответ» (GO:0006954 – inflammatory response, $p=0,00141$), «негативная регуляция секреции катехоламинов» (GO:0033604 – negative regulation of catecholamine secretion, $p=0,00188$), «секреция эпинефрина» (GO:0048242 - epinephrine secretion, $p=0,00188$), «регуляция дифференцировки Т-хелперов 2» (GO:0045628 – regulation of T-helper 2 cell differentiation, $p=0,00188$), «врожденный иммунный ответ» (GO:0045087 - innate immune response, $p=0,00318$), «иммунитет модулируемый нейтрофилами» (GO:0002446 -neutrophil mediated immunity, $p=0,00422$) и молекулярная функция «активность рецептора стероидов» (GO:0003707 – steroid hormone receptor activity, $p=0,0164$).

Второй кластер включал в себя гены, которые участвуют в 10 KEGG путях, 20 биологических процессах и 20 молекулярных функциях, три из которых, вероятно, ассоциированы с механизмами астмы: биологические процессы «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p<0,00001$), «процессинг антигена и презентация экзогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:0002479 – antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p<0,00001$), «связывание ФНО с рецептором» (GO:0005164 – tumor necrosis factor receptor binding, $p=0,01544$).

Для генов, вошедших в третий кластер, выделены 26 KEGG путей, 20 биологических процессов и 20 молекулярных функций, обладающих статистической значимостью. Вероятно, к связанным с механизмами БА можно отнести: KEGG пути «астма» (hsa05310 – Asthma, $p=0,00013$), «процессинг и презентация антигена» (hsa04612 – Antigen processing and presentation, $p=0,00216$)

и «инфекция *Staphylococcus aureus*» (hsa05150 – *Staphylococcus aureus* infection, $p=0,02619$), а также биологические пути – «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p<0,00001$) и «процессинг антигена и презентация пептида или полисахарида через главный комплекс гистосовместимости класса II» (GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, $p<0,00001$).

В четвертом кластере из 3 KEGG путей, 20 биологических процессов и 17 молекулярных функций не зарегистрировано онтологий, которые, вероятно, могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

В состав пятого кластера вошли гены, вовлеченные в 1 KEGG путь, 20 биологических процессов и 19 молекулярных функций. Их них 4 биологических процесса были статистически значимыми и вероятно связанными с механизмами БА: «регуляция продукции ИФН- β » (GO:0032648 - regulation of interferon-beta production, $p=0,00307$), «положительная регуляция продукции ФНО» (GO:0032760 – positive regulation of tumor necrosis factor production, $p=0,00444$), «активация макрофагов, вовлеченных в иммунный ответ» (GO:0002281 – macrophage activation involved in immune response, $p=0,00492$) и «биосинтез ИФН первого типа» (GO:0045351 – type I interferon biosynthetic process, $p=0,00711$).

В шестом кластере из 1 KEGG пути, 20 биологических процессов и 9 молекулярных функций, обладающих статистической значимостью, только процессы «повышение формирования Т-клеток» (GO:0002360 – T cell lineage commitment, $p=0,03508$) и «процессинг антигена и презентация антигена эндогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, $p<0,03508$) могут лежать в основе формирования тяжести БА.

Седьмой кластер включал в себя гены, которые участвуют в 4 KEGG путях, 20 биологических процессах и 20 молекулярных функциях. В данном кластере KEGG путь «бактериальная инвазия в эпителиальные клетки» (hsa05100 – Bacterial invasion of epithelial cells, $p=0,03957$) и молекулярная функция

«активность рецепторов хемокинов» (GO:0004896 – cytokine receptor activity, $p=0,00235$), вероятно, ассоциированы с механизмами БА.

В восьмом кластере из 1 KEGG пути, 20 биологических процессов и 12 молекулярных функций не зарегистрировано онтологий, которые, вероятно, могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию.

Гены девятого кластера участвуют в 14 KEGG путях, 20 биологических процессах и 20 молекулярных функциях, обладающих статистической значимостью. Вероятно, к связанным с механизмами БА можно отнести KEGG пути «астма» (hsa05310 – Asthma, $p=0,00064$) и «инфекция *Staphylococcus aureus*» (hsa05150 - *Staphylococcus aureus* infection, $p=0,01580$), а также биологические пути – «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p<0,00001$) и «процессинг антигена и презентация пептида или полисахарида через главный комплекс гистосовместимости класса II» (GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, $p<0,00001$), «сигнальный путь рецепторов Т-клеток» (GO:0050852 - T cell receptor signaling pathway, $p<0,00001$), «костимуляция Т-клеток» (GO:0031295 – T cell costimulation, $p=0,00011$), «сигнальный путь ИФН- γ » (GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, $p=0,00297$) и «дегрануляция нейтрофилов» (GO:0043312 – neutrophil degranulation, $p=0,00438$).

6.2 Характеристика изменений экспрессии кластеров в течение периода наблюдения

Во всех трех группах сравнения изменения экспрессии генных кластеров во времени носили разноплановый характер.

В группе легкой астмы для трех кластеров генов (1, 4, 6) зарегистрировано увеличение экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением экспрессии во второй половине лечебного периода. Три кластера (2, 7, 8) характеризовались снижением экспрессии в течение первых трех месяцев лечебного периода и увеличением экспрессии в оставшийся период. Для одного

кластера (3) зарегистрировано нарастающее увеличение экспрессии в течение всего лечебного периода и для двух кластеров (5, 9) – снижение экспрессии в анализируемом периоде (Рисунок 14).

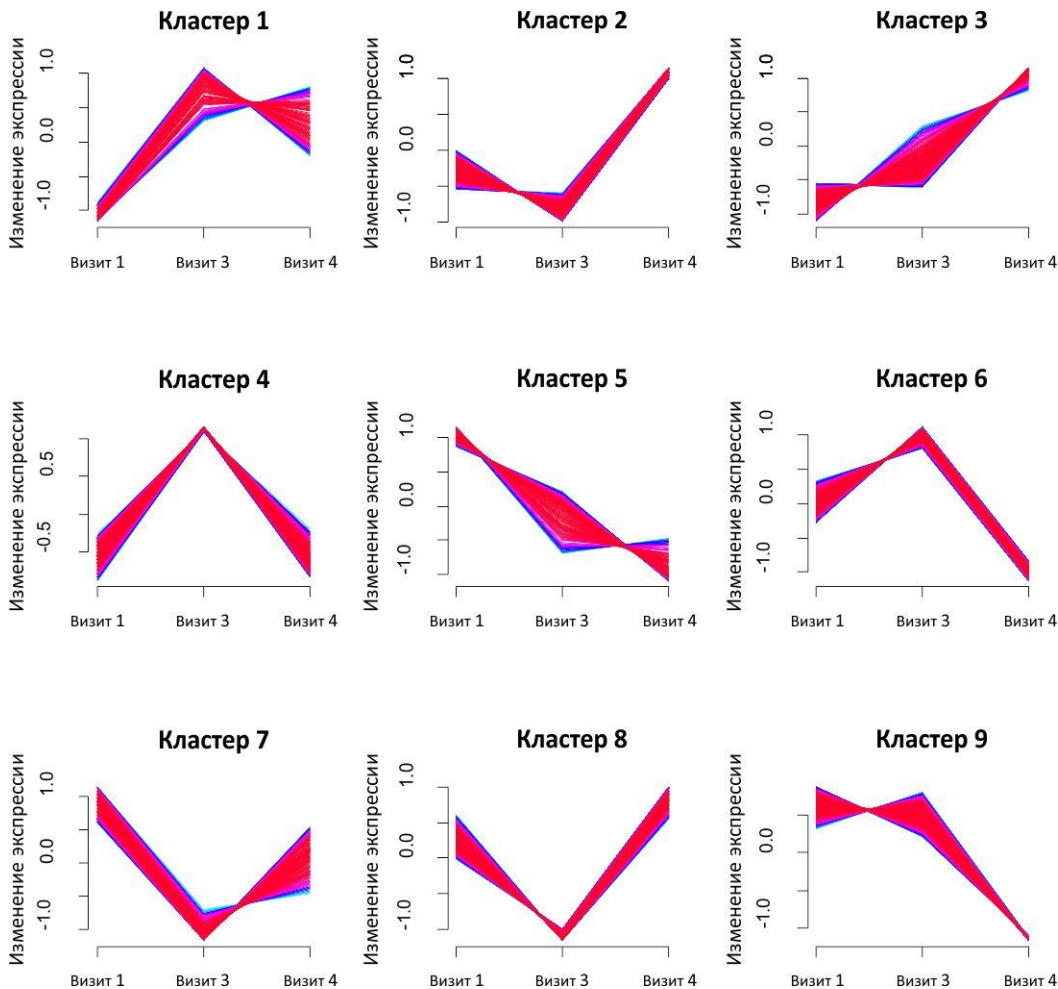


Рисунок 14. Кластеры, отражающие изменения генной экспрессии в течение лечебного периода в группе больных легкой БА

В результате анализа связи между кластерами в группе легкой БА выделены три группы кластеров, которые характеризуются общей закономерностью экспрессии (кластеры 1,4,6, кластеры 5, 9 и кластеры 2, 3, 7, 8).

В группе ТЧБА для трех кластеров (5, 6, 8) зарегистрировано увеличение экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением экспрессии во вторые 12 недель лечебного периода. Три кластера (2, 3, 7) характеризовались

снижением экспрессии в течение первых трех месяцев лечебного периода и увеличением экспрессии в оставшийся период. Для одного кластера (1) зарегистрировано увеличение экспрессии в течение всего лечебного периода и для двух кластеров (4, 9) – снижение экспрессии в анализируемом периоде (Рисунок 15).

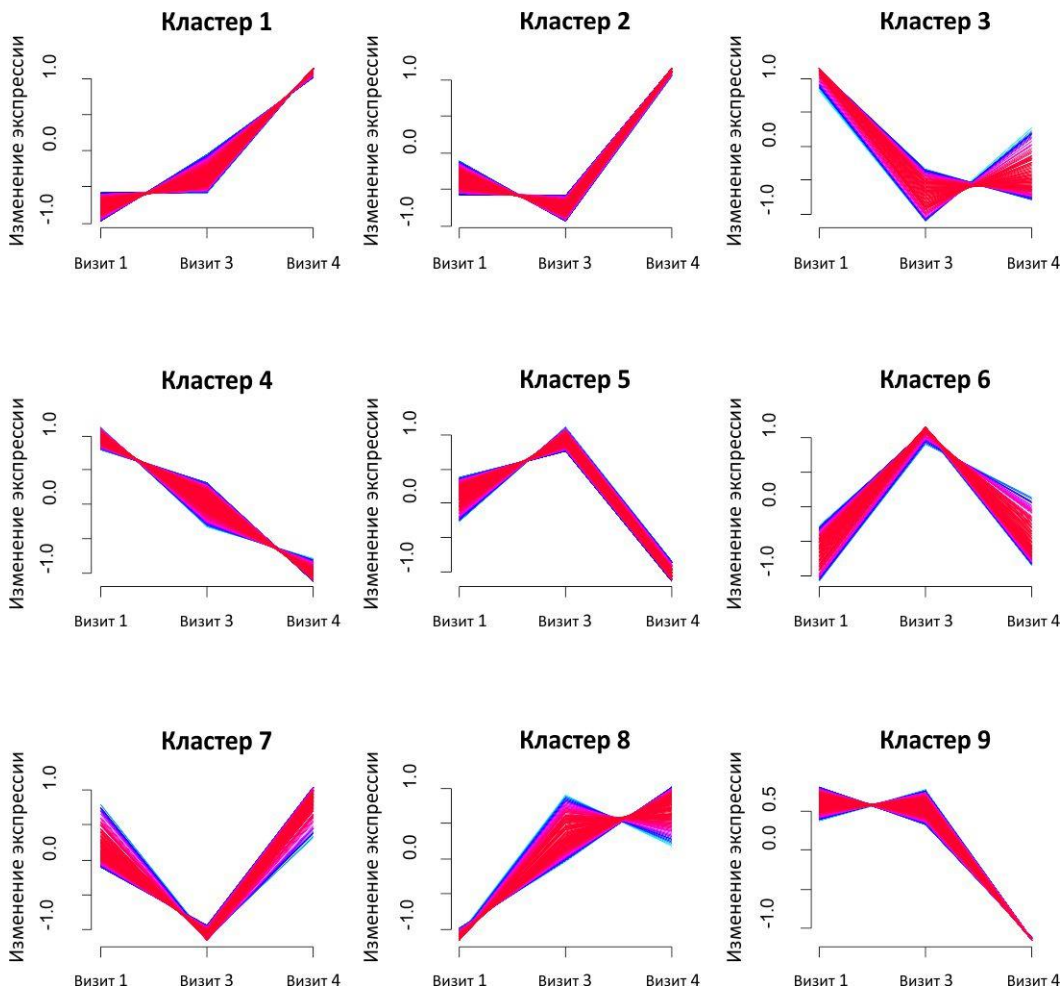


Рисунок 15. Кластеры, отражающие изменения генной экспрессии в течение лечебного периода в группе ТЧБА

В результате анализа связи между кластерами в группе ТЧБА выделены две группы кластеров, которые характеризуются общей закономерностью экспрессии (кластеры 1, 2, 7, 8 и кластеры 3, 4, 5, 6, 9).

В группе ТРБА для четырех кластеров (2, 3, 8, 9) зарегистрировано увеличение экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением

экспрессии во вторые 12 недель лечебного периода. Четыре кластера (1, 4, 5, 7) характеризовались снижением экспрессии в течение первых трех месяцев лечебного периода и увеличением экспрессии в оставшийся период. Только для одного кластера (6) зарегистрировано нарастающее увеличение экспрессии в течение всего лечебного периода. Необходимо отметить, что только в данной группе не было зарегистрировано кластера, экспрессия генов которого закономерно понижалась в течение лечебного периода (Рисунок 16).

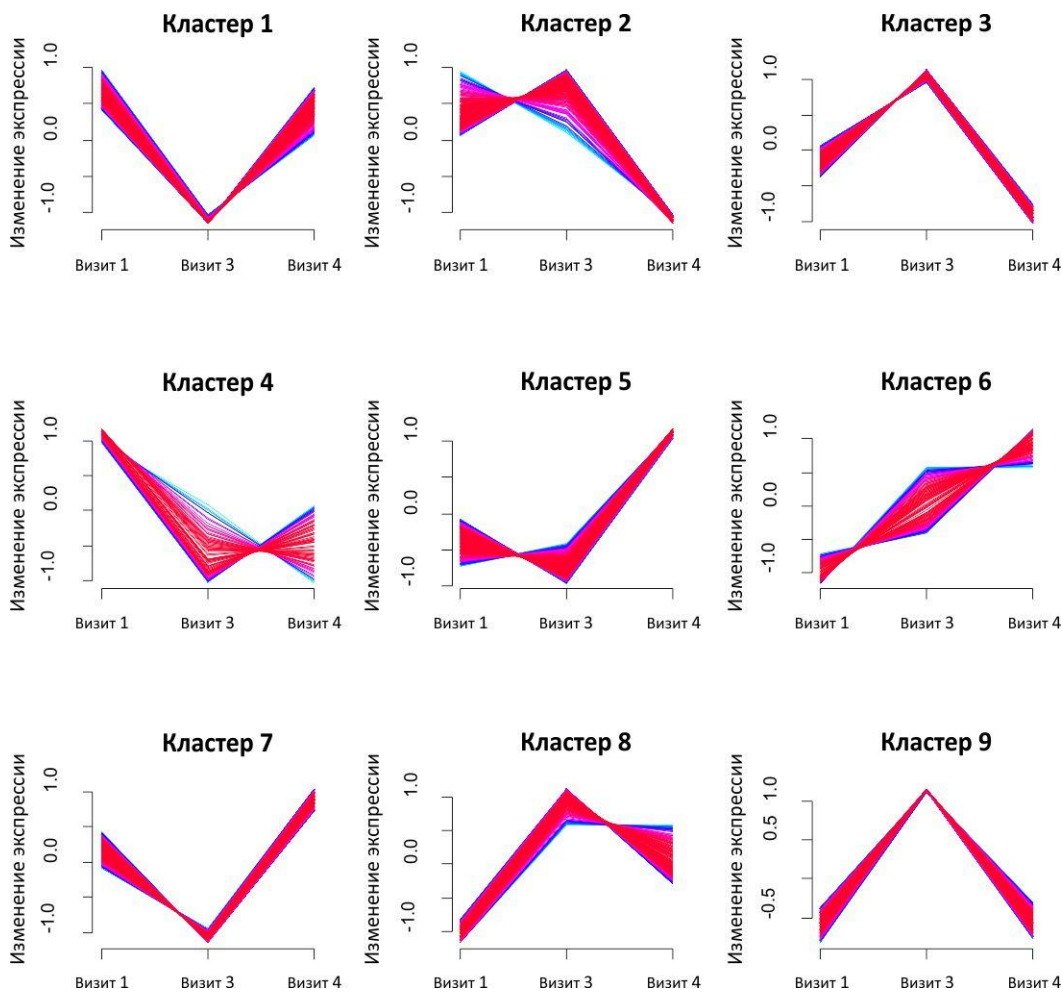


Рисунок 16. Кластеры, отражающие изменения генной экспрессии в течение лечебного периода в группе ТРБА

В результате анализа связи между кластерами в группе ТРБА, также как и в группе ТЧБА выделены две группы кластеров, которые характеризуются общей закономерностью экспрессии (кластеры 2, 3, 8, 9 и кластеры 1, 4, 5, 6, 7).

6.3. Оценка динамики генной экспрессии в течение лечебного периода

С целью оценки динамики генной экспрессии в течение лечебного периода в сравниваемых группах были соотнесены изменения экспрессии кластеров во времени со статистически значимыми KEGG путями и генными онтологиями, ассоциированными с механизмами астмы.

Для получения более точной характеристики динамики генные онтологии, связанные с механизмами БА, были объединены по признаку закономерности экспрессии на основе анализа связи между кластерами в каждой сравниваемой группе.

6.3.1 Группа легкой БА

В течение лечебного периода на основе характера изменений экспрессии кластеров во времени выделены четыре тенденции.

Для генов, входящих в кластеры 1, 4, 6, зарегистрировано увеличение экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением экспрессии во второй половине лечебного периода. Гены, входящие в кластеры 2, 7, 8, характеризовались снижением экспрессии в течение первых трех месяцев лечебного периода и увеличением экспрессии в оставшийся период. Для генов кластера 3 зарегистрировано нарастающее увеличение экспрессии в течение всего лечебного периода и для генов из кластеров 5, 9 – снижение экспрессии в анализируемом периоде (Таблица 49).

Таблица 49

Соотнесение изменений экспрессии кластеров в течение лечебного периода и статистически значимых KEGG путей и генных онтологий для легкой БА

Изменения экспрессии кластеров во времени	Статистически значимые KEGG пути и генные онтологий, ассоциированные с механизмами астмы
---	--

<p>Кластер 1</p>	<p>GO:0045768 – positive regulation of anti-apoptosis, p=0,00834 GO:0045824 – negative regulation of innate immune response, p=0,03957</p>
<p>Кластер 3</p>	<p>GO:0002673 – regulation of acute inflammatory response, p=0,0136</p>
<p>Кластер 4</p>	<p>GO:0060338- regulation of type I interferon-mediated signaling pathway, p=0,01214 GO:0051923 – sulfation, p=0,01941</p>
<p>Кластер 5</p>	<p>hsa05310 – Asthma, p<0,00001 hsa04612 – Antigen processing and presentation, p=0,00011 GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001 GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, p<0,00001 GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, p<0,00001 GO:0050852 – T cell receptor signaling pathway, p<0,00001 GO:0042590 и GO:0002479 – antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,00001 GO:0031295 -T cell costimulation, p<0,00001 GO:0042981 – regulation of apoptotic process, p=0,00012</p>
<p>Кластер 7</p>	<p>GO:0019083- viral transcription, p<0,00001 GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, p=0,03433 GO:0060337 – type I interferon-mediated signaling pathway, p=0,04379</p>
<p>Кластер 8</p>	<p>hsa04660 – T cell receptor signaling pathway, p=0,01267 GO:0045060 -negative thymic T cell selection, p=0,00192 GO:0008624 – apoptotic signalling pathway, p=0,00773 GO:0016493 – C-C chemokine receptor activity, p=0,00042</p>
<p>Кластер 9</p>	<p>GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001 GO:000247- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,00001 GO:0042981 – regulation of apoptotic process, p<0,00001</p>

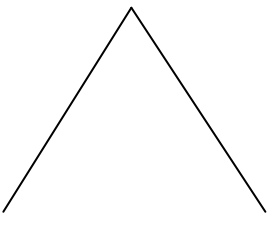
По результатам анализа связи между кластерами выделены три группы кластеров, которые характеризуются общей закономерностью экспрессии.

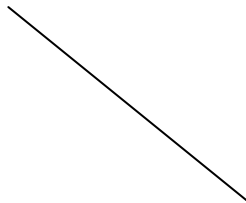
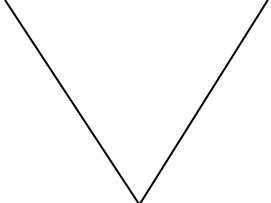
Для генов, входящих в кластеры 1, 4, 6 характерна закономерность, заключающаяся в увеличении экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением экспрессии во второй половине лечебного периода. Гены из кластеров 5 и 9 характеризовались постоянным снижением экспрессии в анализируемом периоде. В группе, включающей гены из кластеров 2, 3, 7, 8, экспрессия снижалась в течение первых трех месяцев лечебного периода и увеличивалась в оставшийся период.

Три закономерности изменений экспрессии группы кластеров генов соотнесены со статистически значимыми KEGG путями и генными онтологиями, ассоциированными с механизмами астмы (Таблица 50).

Таблица 50

Соотнесение изменений экспрессии группы кластеров генов со статистически значимыми KEGG путями и генными онтологиями для легкой БА

<p>Закономерность изменения экспрессии группы кластеров (тренды)</p>	<p>Статистически значимые KEGG пути и генные онтологии, ассоциированные с механизмами астмы</p>
	<p>GO:0045768 – positive regulation of anti-apoptosis, p=0.00834 (1) GO:0045824 – negative regulation of innate immune response, p=0.03957 (1) GO:0060338- regulation of type I interferon-mediated signaling pathway, p=0,01214 (4) GO:0051923 – sulfation, p=0,01941 (4)</p>

	<p>hsa05310 – Asthma, p<0,00001 (5) hsa04612 – Antigen processing and presentation, p=0,00011 (5) GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001 (5,9) GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, p<0,00001 (5) GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, p<0,00001 (5) GO:0050852 – T cell receptor signaling pathway, p<0,00001 (5) GO:0042590 и GO:0002479 – antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,00001 (5) GO:0031295 -T cell costimulation, p<0,00001 (5) GO:0042981 – regulation of apoptotic process, p=0,00012 (5) GO:000247- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,00001 (9) GO:0042981 – regulation of apoptotic process, p<0,00001 (9)</p>
	<p>GO:0002673 – regulation of acute inflammatory response, p=0,0136 (3) GO:0019083- viral transcription, p<0,00001 (7) GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, p=0,03433 (7) GO:0060337 – type I interferon-mediated signaling pathway, p=0,04379 (7) hsa04660 – T cell receptor signaling pathway, p=0,01267 (8) GO:0045060 -negative thymic T cell selection, p=0,00192 (8) GO:0008624 – apoptotic signalling pathway, p=0,00773 (8) GO:0016493 – C-C chemokine receptor activity, p=0,00042 (8)</p>

При интерпретации этих результатов необходимо отметить, что в рамках протокола проведенного исследования, все пациенты с легкой БА находились на регулярной базисной монотерапии в объеме 250 мкг/сут по ФП. На фоне терапии уже через 4 недели контроля болезни достигли 60% пациентов, а с Визита 3 (12 недель) и до конца периода наблюдения у всех пациентов течение болезни расценивалось как контролируемое.

По данным проведенного исследования в течение первых трех месяцев терапии увеличивалась, а затем постепенно снижалась экспрессия генов, участвующих в процессах преимущественно трех функциональных направлений: регуляция апоптоза, регуляция иммунного ответа и биотрансформация ксенобиотиков.

Так, в соответствии с этой закономерностью изменялась экспрессия генов, формирующих биологический процесс «положительная регуляция анти-апоптоза»

(GO:0045768 – positive regulation of anti-apoptosis, $p=0,00834$). Такой паттерн изменения во времени экспрессии генов, имеющих эту функциональную характеристику, может быть отражением активации по принципу отрицательной обратной связи компенсаторных механизмов на фоне активации апоптоза ИКС [308, 140].

Процесс «сульфатирование» (GO:0051923 – sulfation, $p=0,01941$) относится ко второй фазе биотрансформации ксенобиотиков. Установленная закономерность изменения его интенсивности в течение лечебного периода может быть объяснена активацией этого процесса на фоне терапии ИКС и постепенным снижением по мере достижения контроля астмы у пациентов с легкой БА. Необходимо отметить, что большинство лекарственных препаратов, в том числе ИКС и сальбутамол, состоят из двух эпимеров, которые обладают различной кинетической активностью [306]. Более того, метаболизм препаратов, сальбутамола в частности, различается у пациентов с астмой и здоровых лиц. Вероятным объяснением этим данным могут быть дефектные метаболические функции у пациентов с БА, возможно ферментативного происхождения [224]. Однако в рамках проведенного исследования больные легкой БА выступают в качестве группы контроля, в связи с чем характер изменения процесса сульфатирования во времени, вероятно, можно считать нормальным.

Функциональное направление регуляция иммунного ответа представлено процессами «негативная регуляция врожденного иммунного ответа» (GO:0045824 – negative regulation of innate immune response, $p=0,03957$) и «регуляция сигнального пути ИФН 1 типа» (GO:0060338 – regulation of type I interferon-mediated signaling pathway, $p=0,01214$). Паттерн изменения экспрессии этих процессов во времени также можно объяснить активацией по принципу отрицательной обратной связи компенсаторных механизмов.

Второй закономерностью изменений генной экспрессии и интенсивности соответствующих им метаболических процессов во времени является постепенное снижение в течение всего лечебного периода. Такой паттерн изменений по данным проведенного исследования характерен для 2 KEGG путей

и 9 биологических процессов, биологическую сущность которых можно разделить на три основных направления: процессинг и презентация антигена (hsa04612 – Antigen processing and presentation, $p=0,00011$, GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, $p<0,00001$, GO:0042590 и GO:0002479 – antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p<0,00001$, GO:000247- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p<0,00001$), изменение активности Т-клеток (GO:0050852 – T cell receptor signaling pathway, $p<0,00001$, GO:0031295 -T cell costimulation, $p<0,00001$) и регуляция апоптоза (GO:0042981 – regulation of apoptotic process, $p=0,00012$ и $p<0,00001$). Закономерность изменения экспрессии генов, характеризующих данные онтологии и пути, вероятно, является отражением подавления активности этих процессов на фоне регулярной базисной противовоспалительной терапии.

Необходимо отметить, что в течение всего периода наблюдения постепенно снижалась экспрессия генов, формирующих KEGG путь «астма» (hsa05310 – Asthma, $p<0,00001$). Этот путь связан с генами, которые имеют отношение к установленным механизмам патогенеза БА, и установленная закономерность изменения их экспрессии во времени, вероятно, отражает динамику генной активности в ответ на терапию ИКС у пациентов с легкой астмой.

Также в соответствии с этой закономерностью меняется экспрессия генов, участвующих в таких биологических процессах как «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p<0,00001$) и «сигнальный путь ИФН- γ » (GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, $p<0,00001$). Однако учитывая клинико-функциональную характеристику исследованной группы больных легкой БА и отсутствие признаков вирусного поражения верхних дыхательных путей, как на момент включения, так и в течение лечебного периода, указанные процессы могут и не быть прямо ассоциированы с механизмами астмы.

Необходимо отметить, что по данным некоторых исследований ИФН- γ можно рассматривать в качестве мишени для терапии астмы [189]. Однако в последние годы на модели заболевания у животных по данному цитокину

получены достаточно противоречивые данные. Так, с одной стороны низкие дозы ИФН- γ ассоциированы со снижением интенсивности воспаления в бронхах, с другой стороны продемонстрировано, что ИФН- γ способен стимулировать макрофаги, что приводит к развитию воспаления, резистентному к терапии стероидами и повышению БГР [220, 190].

В рамках третьей закономерности изменений активности кластеров генов во времени (снижение в течение первых трех месяцев лечебного периода с последующим повышением), зарегистрированы следующие пути, процессы и функции: регуляция воспаления (GO:0002673 – regulation of acute inflammatory response, $p=0,0136$, GO:0016493 – C-C chemokine receptor activity, $p=0,00042$), изменения активности Т-клеток (hsa04660 – T cell receptor signaling pathway, $p=0,01267$, GO:0045060 – negative thymic T cell selection, $p=0,00192$) и апоптоз (GO:0008624 – apoptotic signalling pathway, $p=0,00773$).

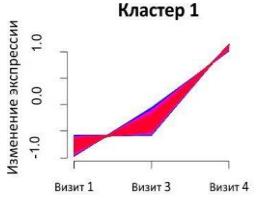

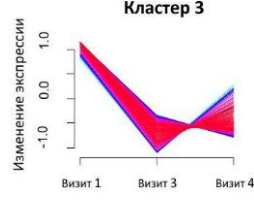
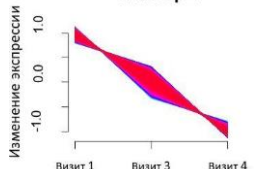
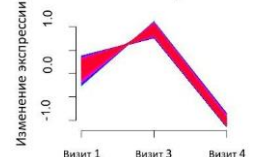
Представленное изменение во времени указанных процессов и функций может быть следствием подавления их активности на фоне регулярной базисной противовоспалительной терапии с активацией компенсаторных механизмов во второй половине лечебного периода.

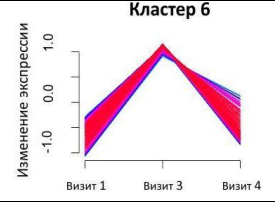
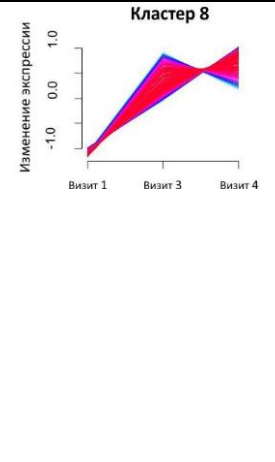
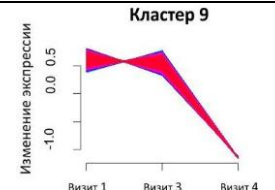
6.3.2 Группа ТЧБА

В течение лечебного периода на основе характера изменений экспрессии кластеров во времени в данной группе пациентов выделены также четыре тенденции.

Для генов, входящих в кластеры 5, 6, 8, зарегистрировано увеличение экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением экспрессии во вторые 12 недель лечебного периода. Три кластера (2, 3, 7) характеризовались снижением экспрессии в течение первых трех месяцев лечебного периода и увеличением экспрессии в оставшийся период. Для генов, формирующих кластер 1, зарегистрировано нарастающее увеличение экспрессии в течение всего лечебного периода, а для генов двух кластеров (4, 9) - снижение экспрессии в анализируемом периоде (Таблица 51).

Соотнесение изменений экспрессии кластеров в течение лечебного периода
и статистически значимых KEGG путей и генных онтологий
для ТЧБА

Изменения экспрессии кластеров во времени	Статистически значимые KEGG пути и генные онтологии, ассоциированные с механизмами астмы
 <p style="text-align: center;">Кластер 1</p>	<p>hsa04650 – Natural killer cell mediated cytotoxicity, p=0,00385 hsa04660 – T cell receptor signaling pathway, p=0,01756 GO:0050776 – regulation of immune response, p<0,00001 GO:0060338 – regulation of type I interferon-mediated signaling pathway, p=0,00047 GO:0030888 – regulation of B cell proliferation, p=0,00108 GO:0032715 – negative regulation of interleukin-6 production, p=0,00158 GO:0045582 – positive regulation of T cell differentiation, p=0,00171 GO:0042119 – neutrophil activation, p=0,00178 GO:0003823 – antigen binding, p=0,00506 GO:0019956 – chemokine binding, p=0,00655</p>
 <p style="text-align: center;">Кластер 2</p>	<p>hsa4662 – B cell receptor signaling pathway, p=0,02356 GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,00001 GO:0002446 – neutrophil mediated immunity, p=0,00011 GO:2000515-negative regulation of CD4-positive, alpha-beta T cell activation, p=0,00047 GO:0046639 – negative regulation of alpha-beta T cell differentiation, p=0,00071</p>
 <p style="text-align: center;">Кластер 3</p>	<p>GO:0010820 – positive regulation of T cell chemotaxis, p=0,0350 GO:0042535 – positive regulation of tumor necrosis factor biosynthetic process, p=0,0350 GO:0032743 – positive regulation of interleukin-2 production, p=0,0384 GO:0090026 – positive regulation of monocyte chemotaxis, p=0,0384</p>
 <p style="text-align: center;">Кластер 4</p>	<p>GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, p=0,0351 GO:0045087 – innate immune response, p=0,0376</p>
 <p style="text-align: center;">Кластер 5</p>	<p>GO:0019083 – viral transcription, p=0,00020</p>

 <p>Кластер 6</p>	<p>GO:0045087 – innate immune response, p=0,00317</p> <p>GO:0002682 – regulation of immune system process, p=0,01936</p> <p>GO:0008207 – C21-steroid hormone metabolic process, p=0,03368</p> <p>GO:0034391 -regulation of smooth muscle cell apoptotic process, p=0,04245</p>
 <p>Кластер 8</p>	<p>hsa4612 -Antigen processing and presentation, p=0,04517</p> <p>GO:0006955 – immune response, p=0,00096</p> <p>GO:0006954 – inflammatory response, p=0,00151</p> <p>GO:0050776- regulation of immune response, p=0,00282</p> <p>GO:0001816 – cytokine production, p=0,00342</p> <p>GO:0043067 – regulation of programmed cell death, p=0,01386</p> <p>GO:0030101 – natural killer cell activation, p=0,02829</p> <p>GO:0006935 – chemotaxis, p=0,04005</p> <p>GO:0008009 – chemokine activity, p=0,00412</p> <p>GO:0004896 – cytokine receptor activity, p=0,02412</p>
 <p>Кластер 9</p>	<p>GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001</p> <p>GO:0002479- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, p=0,00118</p> <p>GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, p=0,00170</p>

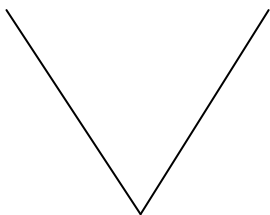
По результатам анализа связи между кластерами выделены только две группы кластеров, которые характеризуются общей закономерностью экспрессии.


Для генов, входящих в кластеры 1,2,7,8, характерна закономерность, заключающаяся в различной степени интенсивности снижения экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим повышением во второй половине лечебного периода. А для генов кластеров 3, 4, 5, 6, 9 зарегистрирована обратная закономерность – увеличение экспрессии с последующим снижением.

При этом необходимо отметить, что, в отличие от легкой БА, у тяжелых терапевтически чувствительных пациентов, внутри группы связанных кластеров степень и направление изменения экспрессии генов отдельных кластеров сильнее отличались друг от друга.

Данные закономерности изменения экспрессии группы кластеров генов были соотнесены со статистически значимыми KEGG путями и генными онтологиями, ассоциированными с механизмами астмы (Таблица 52).

Соотнесение изменений экспрессии группы кластеров генов со
статистически значимыми KEGG путями и генными онтологиями
для ТЧБА

<p>Закономерность изменения экспрессии группы кластеров (тренды)</p>	<p>Статистически значимые KEGG пути и генные онтологии, ассоциированные с механизмами астмы</p>
	<p>hsa04650 – Natural killer cell mediated cytotoxicity, p=0,00385 (1) hsa04660 – T cell receptor signaling pathway, p=0,01756 (1) GO:0050776 – regulation of immune response, p<0,00001 (1) GO:0060338 – regulation of type I interferon-mediated signaling pathway, p=0,00047 (1) GO:0030888 – regulation of B cell proliferation, p=0,00108 (1) GO:0032715 – negative regulation of interleukin-6 production, p=0,00158 (1) GO:0045582 – positive regulation of T cell differentiation, p=0,00171 (1) GO:0042119 – neutrophil activation, p=0,00178 (1) GO:0003823 – antigen binding, p=0,00506 (1) GO:0019956 – chemokine binding, p=0,00655 (1) hsa4662 – B cell receptor signaling pathway, p=0,02356 (2) GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,00001 (2) GO:0002446 – neutrophil mediated immunity, p=0,00011 (2) GO:2000515-negative regulation of CD4-positive, alpha-beta T cell activation, p=0,00047 (2) GO:0046639 – negative regulation of alpha-beta T cell differentiation, p=0,00071 (2) hsa4612 -Antigen processing and presentation, p=0,04517 (8) GO:0006955 – immune response, p=0,00096 (8) GO:0006954 – inflammatory response, p=0,00151 (8) GO:0050776- regulation of immune response, p=0,00282 (8) GO:0001816 – cytokine production, p=0,00342 (8) GO:0043067 – regulation of programmed cell death, p=0,01386 (8) GO:0030101 – natural killer cell activation, p=0,02829 (8) GO:0006935 – chemotaxis, p=0,04005 (8) GO:0008009 – chemokine activity, p=0,00412 (8) GO:0004896 – cytokine receptor activity, p=0,02412 (8)</p>

	<p>GO:0010820 – positive regulation of T cell chemotaxis, p=0,0350 (3)</p> <p>GO:0042535 – positive regulation of tumor necrosis factor biosynthetic process, p=0,0350 (3)</p> <p>GO:0032743 – positive regulation of interleukin-2 production, p=0,0384 (3)</p> <p>GO:0090026 – positive regulation of monocyte chemotaxis, p=0,0384 (3)</p> <p>GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, p=0,0351 (4)</p> <p>GO:0045087 – innate immune response, p=0,0376 (4)</p> <p>GO:0019083 – viral transcription, p=0,00020 (5)</p> <p>GO:0045087 – innate immune response, p=0,00317 (6)</p> <p>GO:0002682 – regulation of immune system process, p=0,01936 (6)</p> <p>GO:0008207 – C21-steroid hormone metabolic process, p=0,03368 (6)</p> <p>GO:0034391 -regulation of smooth muscle cell apoptotic process, p=0,04245 (6)</p> <p>GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001 (9)</p> <p>GO:0002479- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, p=0,00118 (9)</p> <p>GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, p=0,00170 (9)</p>
---	--

При интерпретации этих результатов необходимо учесть, что в рамках протокола проведенного исследования все пациенты данной группы находились на регулярной базисной комбинированной терапии в объеме 1000 мкг/сут по ФП. У пациентов данной группы статистически значимое улучшение основных клиничко-функциональных показателей зарегистрировано уже к моменту Визита 2 (4 недели терапии) и в дальнейшем положительная динамика сохранялась. К окончанию периода наблюдения значения ОФВ1 достигли условных возрастных норм, а проявление клинических симптомов было минимальным.

Таким образом, по данным нашего исследования в течение первых трех месяцев терапии снижалась, а затем постепенно увеличивалась экспрессия генов, участвующих в процессах преимущественно пяти функциональных направлений – регуляция иммунного ответа, изменения активности Т-клеток, активация НК, активация нейтрофилов и регуляция апоптоза.

Прежде всего, необходимо отметить, что по сравнению с легкой БА в группе ТЧБА по результатам кластерного анализа зарегистрировано значительно большее количество генных онтологий, ассоциированных с механизмами заболевания. Это может свидетельствовать о более сложной регуляции

воспаления и вовлеченности в воспалительный каскад дополнительных механизмов.

Так, например, функциональное направление регуляция иммунного ответа представлено двумя KEGG путями и 13 биологическими процессами.

В составе генов первого кластера зарегистрированы такие биологические процессы как «регуляция иммунного ответа» (GO:0050776 – regulation of immune response, $p < 0,00001$), «регуляция пролиферации В-клеток» (GO:0030888 – regulation of B cell proliferation, $p = 0,00108$), «связывание антигена» (GO:0003823 – antigen binding, $p = 0,00506$), «связывание хемокинов» (GO:0019956 – chemokine binding, $p = 0,00655$) и «негативная регуляция продукции ИЛ-6» (GO:0032715 – negative regulation of interleukin-6 production, $p = 0,00158$). Изменения экспрессии генов, формирующих данный кластер, можно охарактеризовать некоторой задержкой увеличения экспрессии в первые 12 недель лечебного периода с дальнейшим выраженным ростом экспрессии.

В составе генов второго кластера из данного функционального направления зарегистрирован KEGG путь «сигнальный путь В-клеток» (hsa4662 – B cell receptor signaling pathway, $p = 0,02356$), и онтология «процессинг антигена и презентация антигена эндогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, $p < 0,00001$). Изменения экспрессии генов, составляющих данный кластер, были сопоставимы с кластером 1, однако в первые 12 недель терапии наблюдалось незначительное снижение экспрессии с последующим выраженным ростом в оставшемся периоде.

В составе генов, формирующих восьмой кластер зарегистрирован путь «процессинг и презентация антигена» (hsa4612 – Antigen processing and presentation, $p = 0,04517$) и биологические процессы «иммунный ответ» (GO:0006955 – immune response, $p = 0,00096$), «воспалительный ответ» (GO:0006954 – inflammatory response, $p = 0,00151$), «регуляция иммунного ответа» (GO:0050776 – regulation of immune response, $p = 0,00282$), «продуция цитокинов» (GO:0001816 – cytokine production, $p = 0,00342$), «хемотаксис» (GO:0006935 –

chemotaxis, $p=0,04005$), «активность хемокинов» (GO:0008009 – chemokine activity, $p=0,00412$) и «активность рецепторов хемокинов» (GO:0004896 – cytokine receptor activity, $p=0,02412$). При этом, несмотря на то, что первый, второй и восьмой кластеры входят в связанную группу, изменения экспрессии генов, составляющих восьмой кластер, отличались от первого и второго. Так, в данном кластере экспрессия нарастала в первые 12 недель терапии с последующим замедлением экспрессии.

Таким образом, на фоне регулярной комбинированной базисной противовоспалительной терапии в группе ТЧБА в течение первых 12 недель наблюдается подавление экспрессии начальных фаз иммунного ответа (пролиферация В-клеток, связывание антигена и хемокинов) с последующим повышением экспрессии, вероятно, в связи с активацией компенсаторных механизмов.

С другой стороны, характеристика изменений экспрессии генов, формирующих «эффektorные» механизмы (воспалительный ответ, продукция цитокинов, активность хемокинов и их рецепторов), состоящая в подавлении экспрессии только во второй половине периода наблюдения свидетельствует о том, что длительность терапии в стабильной дозе у данной группы пациентов не должна быть менее 6 месяцев.

К функциональному направлению «изменение активности Т-клеток» можно отнести следующие онтологии – KEGG путь «сигнальный путь рецепторов Т-клеток» (hsa04660 – T cell receptor signaling pathway, $p=0,01756$) и биологические процессы «положительная регуляция дифференцировки Т-клеток» (GO:0045582 – positive regulation of T cell differentiation, $p=0,00171$), «негативная регуляция активации CD4 позитивных альфа-бета Т-клеток» (GO:2000515- negative regulation of CD4-positive, alpha-beta T cell activation, $p=0,00047$) и «негативная регуляция дифференцировки альфа-бета Т-клеток» (GO:0046639 - negative regulation of alpha-beta T cell differentiation, $p=0,00071$). Данные онтологии сформированы генами, входящими в состав первого и второго кластера,

изменения экспрессии этих генов состоят в подавлении или замедлении экспрессии в первые 12 недель терапии с последующим ростом.

Таким образом, на фоне терапии в данной группе пациентов с течением времени нарастает негативная регуляция дифференцировки и активации альфа-бета Т-клеток. Задержка изменения экспрессии в первой половине лечебного периода может свидетельствовать как об исходной высокой активности данных процессов, так и о задержке реализации эффектов терапии. При этом необходимо отметить, что на сегодняшний день опубликован целый ряд исследований, в которых показана ассоциация тяжести течения болезни с уровнем Т-клеток, их фенотипами и секретируемыми цитокинами [185, 256, 110, 293].

Активация нейтрофилов и регуляция апоптоза представлены биологическими процессами «активация нейтрофилов» (GO:0042119 – neutrophil activation, $p=0,00178$), «иммунитет модулируемый нейтрофилами» (GO:0002446 – neutrophil mediated immunity, $p=0,00011$) и «регуляция программируемой клеточной гибели» (GO:0043067 – regulation of programmed cell death, $p=0,01386$). На фоне терапии экспрессия генов, формирующих данные онтологии, нарастала. Как уже отмечалось в предыдущей главе, согласно современным представлениям нейтрофил является основной эффекторной клеткой при тяжелой форме болезни [236, 238, 229]. Наряду с этим преобладающий паттерн нейтрофильного воспаления может являться причиной недостаточной эффективности ИКС, которые действуют преимущественно на эозинофильный компонент [221, 237]. Более того, в нескольких исследованиях продемонстрировано, что монотерапия ИКС в высоких дозах ассоциирована с достоверным приростом количества нейтрофилов, в то время как добавление сальметерола приводило к стабилизации количества нейтрофилов [265]. Однако, по данным нашего исследования данный эффект сальметерола не был реализован и в течение периода наблюдения на фоне комбинированной терапии, процессы, отражающие активность нейтрофилов, нарастали.

Также на фоне терапии в течение лечебного периода увеличивалась экспрессия генов, формирующих процессы, отражающие активацию и

цитотоксичность НК – KEGG путь «цитотоксичность НК» (hsa04650 – Natural killer cell mediated cytotoxicity, $p=0,00385$) и биологический процесс «активация НК» (GO:0030101 – natural killer cell activation, $p=0,02829$).

Необходимо отметить, что биологический процесс «активация НК» с учетом изменения экспрессии, ассоциированных с ним генов, был повышенным в группе ТЧБА в сравнении с резистентной формой болезни по результатам анализа генных онтологий, представленного в предыдущей главе.

Отличительной особенностью данных клеток является отсутствие необходимости предварительной сенситизации для реализации своих функций [201]. После активации НК способны синтезировать и высвобождать широкий спектр преимущественно провоспалительных цитокинов, их активность ассоциирована с БГР и модуляцией Th2-клеток, в настоящее время в патогенезе астмы им все чаще отводится роль модуляторов воспаления [328, 339, 325].

Во второй группе связанных кластеров на фоне терапии наблюдалось снижение экспрессии генов, формирующих такие онтологии как «положительная регуляция хемотаксиса Т-клеток» (GO:0010820 – positive regulation of T cell chemotaxis, $p=0,0350$), «положительная регуляция хемотаксиса моноцитов» (GO:0090026 – positive regulation of monocyte chemotaxis, $p=0,0384$), «положительная регуляция биосинтеза ФНО» (GO:0042535 – positive regulation of tumor necrosis factor biosynthetic process, $p=0,0350$), «положительная регуляция продукции ИЛ-2» (GO:0032743 – positive regulation of interleukin-2 production, $p=0,0384$), «врожденный иммунный ответ» (GO:0045087 – innate immune response, $p=0,0376$), «процессинг антигена и презентация экзогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:0002479- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p=0,00118$) и «регуляция иммунной системы» (GO:0002682 – regulation of immune system process, $p=0,01936$). Снижение описанных процессов, вероятно, можно отнести к эффектам комбинированной базисной противовоспалительной терапии.

К онтологиям, ассоциированным с патогенезом БА, можно отнести и «метаболизм С21-стероидных гормонов» (GO:0008207 – C21-steroid hormone

metabolic process, $p=0,03368$). Данный биологический процесс зарегистрирован в рамках кластера 6, экспрессия генов которого имела тенденцию к увеличению в первые 12 недель терапии и к снижению во второй половине периода наблюдения. Вероятно, начальное повышение экспрессии данного процесса ассоциировано с развитием компенсаторных функций, а последующее снижение может быть следствием угнетения эндогенной секреции кортикостероидов на фоне получения высоких доз ИКС и сохраненной чувствительности кортикостероидного рецептора [276]. Необходимо также отметить, что близкая по функциональности онтология «процесс биосинтеза С21-стероидных гормонов» (GO:0006700) зарегистрирована в рамках анализа генных онтологий в данном исследовании.

Генами шестого кластера был сформирован биологический процесс «регуляция апоптоза гладкомышечных клеток» (GO:0034391 -regulation of smooth muscle cell apoptotic process, $p=0,04245$), что может быть отражением процесса ремоделирования в бронхах [207].

Сразу в составе генов двух кластеров 9 и 4 зарегистрированы биологические процессы «метаболизм ксенобиотиков» (GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, $p=0,00170$ (9) и GO:0006805 – xenobiotic metabolic process, $p=0,0351$ (4)). Однако при сопоставлении изменения экспрессии генов, формирующих данные онтологии, с терапией представляется затруднительной интерпретация снижения на фоне регулярного приема комбинированного препарата в высоких дозах.

Также в составе генов двух кластеров 9 и 5 зарегистрированы такие биологические процессы как «вирусная транскрипция» (GO:0019083 – viral transcription, $p<0,00001$ и $p=0,00020$). Однако, учитывая клинико-функциональную характеристику данной группы и отсутствие признаков вирусного поражения верхних дыхательных путей, как на момент включения, так и в течение лечебного периода, данные процессы могут и не быть прямо ассоциированы с механизмами астмы.

6.3.3 Группа ТРБА

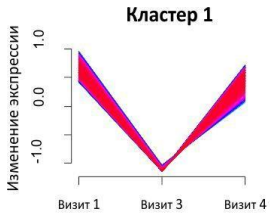
В течение лечебного периода на основе характера изменений экспрессии кластеров во времени в данной группе пациентов выделено только три тенденции.

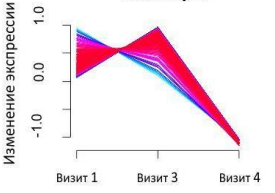
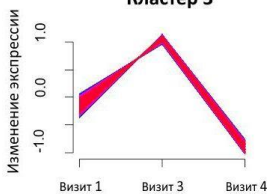
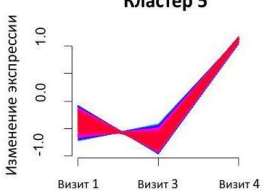
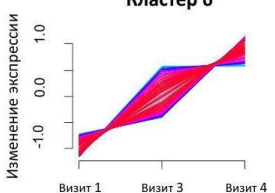
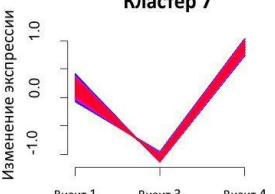
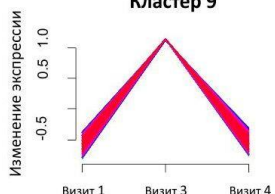
Для генов, входящих в кластеры 2, 3, 8, 9 зарегистрировано увеличение экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением экспрессии во вторые 12 недель лечебного периода. Гены четырех кластеров (1, 4, 5, 7) характеризовались снижением экспрессии в течение первых трех месяцев лечебного периода и увеличением экспрессии в оставшийся период. Для генов кластера 6 зарегистрировано нарастающее увеличение экспрессии в течение всего лечебного периода (Таблица 53).

Необходимо отметить, что только в данной группе не было зарегистрировано кластера экспрессия генов, которого закономерно понижалась в течение лечебного периода.

Таблица 53

Соотнесение изменений экспрессии кластеров в течение лечебного периода и статистически значимых KEGG путей и генных онтологий для ТРБА

Изменения экспрессии кластеров во времени	Статистически значимые KEGG пути и генные онтологии, ассоциированные с механизмами астмы
 <p>Кластер 1</p>	<p>hsa00910 – Nitrogen metabolism, p=0,00429</p> <p>GO:0006691 – leukotriene metabolic process, p<0,00001</p> <p>GO:0006954 – inflammatory response, p=0,00141</p> <p>GO:0033604 – negative regulation of catecholamine secretion, p=0,00188</p> <p>GO:0048242 -epinephrine secretion, p=0,00188</p> <p>GO:0045628 – regulation of T-helper 2 cell differentiation, p=0,00188</p> <p>GO:0045087 – innate immune response, p=0,00318</p> <p>GO:0002446 -neutrophil mediated immunity, p=0,00422</p> <p>GO:0003707 – steroid hormone receptor activity, p=0,0164</p>

<p>Кластер 2</p> 	<p>GO:0019083 – viral transcription, $p < 0,00001$ GO:0002479 – antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, $p < 0,00001$ GO:0005164 – tumor necrosis factor receptor binding, $p = 0,01544$</p>
<p>Кластер 3</p> 	<p>hsa05310 – Asthma, $p = 0,00013$ hsa04612 – Antigen processing and presentation, $p = 0,00216$ hsa05150 -Staphylococcus aureus infection, $p = 0,02619$ GO:0019083 – viral transcription, $p < 0,00001$ GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, $p < 0,00001$</p>
<p>Кластер 5</p> 	<p>GO:0032648 – regulation of interferon-beta production, $p = 0,00307$ GO:0032760 – positive regulation of tumor necrosis factor production, $p = 0,00444$ GO:0002281 – macrophage activation involved in immune response, $p = 0,00492$ GO:0045351 – type I interferon biosynthetic process, $p = 0,00711$</p>
<p>Кластер 6</p> 	<p>GO:0002360 – T cell lineage commitment, $p = 0,03508$ GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, $p < 0,03508$</p>
<p>Кластер 7</p> 	<p>hsa05100 – Bacterial invasion of epithelial cells, $p = 0,03957$ GO:0004896 – cytokine receptor activity, $p = 0,00235$</p>
<p>Кластер 9</p> 	<p>hsa05310 – Asthma, $p = 0,00064$ hsa05150 -Staphylococcus aureus infection, $p = 0,01580$ GO:0019083 – viral transcription, $p < 0,00001$ GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, $p < 0,00001$ GO:0050852 – T cell receptor signaling pathway, $p < 0,00001$ GO:0031295 – T cell costimulation, $p = 0,00011$ GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, $p = 0,00297$ GO:0043312 – neutrophil degranulation, $p = 0,00438$</p>

По результатам анализа связи между кластерами выделены только две группы кластеров, которые характеризуются общей закономерностью экспрессии.

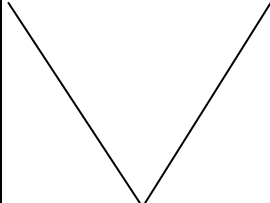
Для генов, входящих в кластеры 1, 4, 5, 6, 7, была характерна закономерность, состоящая в различной степени выраженности снижения

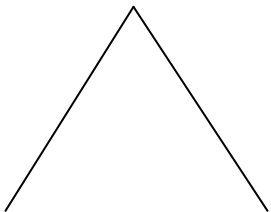
экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим повышением во второй половине лечебного периода. А для генов кластеров 2, 3, 8, 9 зарегистрирована обратная закономерность – увеличение экспрессии с последующим снижением.

Эти закономерности изменения экспрессии группы кластеров генов были соотнесены со статистически значимыми KEGG путями и генными онтологиями, ассоциированными с механизмами астмы (Таблица 54).

Таблица 54

Соотнесение изменений экспрессии группы кластеров генов со
статистически значимыми KEGG путями и генными онтологиями
для ТРБА

Закономерность изменения экспрессии группы кластеров (тренды)	Статистически значимые KEGG пути и генные онтологии, ассоциированные с механизмами астмы
	hsa00910 – Nitrogen metabolism, p=0,00429 (1) GO:0006691 – leukotriene metabolic process, p<0,00001 (1) GO:0006954 – inflammatory response, p=0,00141 (1) GO:0033604 – negative regulation of catecholamine secretion, p=0,00188 (1) GO:0048242 -epinephrine secretion, p=0,00188 (1) GO:0045628 – regulation of T-helper 2 cell differentiation, p=0,00188 (1) GO:0045087 – innate immune response, p=0,00318 (1) GO:0002446 -neutrophil mediated immunity, p=0,00422 (1) GO:0003707 – steroid hormone receptor activity, p=0,0164 (1) GO:0032648 – regulation of interferon-beta production, p=0,00307 (5) GO:0032760 – positive regulation of tumor necrosis factor production, p=0,00444 (5) GO:0002281 – macrophage activation involved in immune response, p=0,00492 (5) GO:0045351 – type I interferon biosynthetic process, p=0,00711 (5) GO:0002360 – T cell lineage commitment, p=0,03508 (6) GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,03508 (6) hsa05100 – Bacterial invasion of epithelial cells, p=0,03957 (7) GO:0004896 – cytokine receptor activity, p=0,00235 (7)

	<p>GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001 (2)</p> <p>GO:0002479 – antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, p<0,00001 (2)</p> <p>GO:0005164 – tumor necrosis factor receptor binding, p=0,01544 (2)</p> <p>hsa05310 – Asthma, p=0,00013 (3)</p> <p>hsa04612 – Antigen processing and presentation, p=0,00216 (3)</p> <p>hsa05150 -Staphylococcus aureus infection, p=0,02619 (3)</p> <p>GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001 (3)</p> <p>GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, p<0,00001 (3)</p> <p>hsa05310 – Asthma, p=0,00064 (9)</p> <p>hsa05150 -Staphylococcus aureus infection, p=0,01580 (9)</p> <p>GO:0019083 – viral transcription, p<0,00001 (9)</p> <p>GO:0002504 – antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II, p<0,00001 (9)</p> <p>GO:0050852 – T cell receptor signaling pathway, p<0,00001 (9)</p> <p>GO:0031295 – T cell costimulation, p=0,00011 (9)</p> <p>GO:0060333 – interferon-gamma-mediated signaling pathway, p=0,00297 (9)</p> <p>GO:0043312 – neutrophil degranulation, p=0,00438 (9)</p>
---	--

При интерпретации данных результатов необходимо отметить, что в рамках протокола данного исследования все пациенты данной группы находились на регулярной базисной комбинированной терапии в объеме 1000 мкг/сут по ФП. На фоне данного режима лечения был зарегистрирован незначительный начальный положительный эффект, но в дальнейшем данная положительная динамика практически отсутствовала.

В первой группе связанных кластеров гены сформировали 2 KEGG пути и 13 генных онтологий, вероятно, ассоциированных с механизмами астмы. При этом подавляющее большинство онтологий и характер изменения экспрессии генов, формирующих их, во времени оказались сопоставимыми с таковыми в группе ТЧБА. К таким процессам можно отнести онтологии двух функциональных направлений – регуляция иммунного ответа и изменение активности Т-клеток: «воспалительный ответ» (GO:0006954 – inflammatory response, p=0,00141), «регуляция дифференцировки Т-хелперов 2» (GO:0045628 – regulation of T-helper

2 cell differentiation, $p=0,00188$), «врожденный иммунный ответ» (GO:0045087 – innate immune response, $p=0,00318$), «иммунитет модулируемый нейтрофилами» (GO:0002446 -neutrophil mediated immunity, $p=0,00422$), «регуляция продукции ИФН- β » (GO:0032648 – regulation of interferon-beta production, $p=0,00307$), «положительная регуляция продукции ФНО» (GO:0032760 – positive regulation of tumor necrosis factor production, $p=0,00444$), «активация макрофагов, вовлеченных в иммунный ответ» (GO:0002281 – macrophage activation involved in immune response, $p=0,00492$), «биосинтез ИФН первого типа» (GO:0045351 – type I interferon biosynthetic process, $p=0,00711$), «повышение формирования Т-клеток» (GO:0002360 – T cell lineage commitment, $p=0,03508$), «процессинг антигена и презентация антигена эндогенного пептида через главный комплекс гистосовместимости класса I» (GO:0019885 – antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I, $p<0,03508$), «активность рецепторов хемокинов» (GO:0004896 – cytokine receptor activity, $p=0,00235$), «метаболизм лейкотриенов» (GO:0006691 – leukotriene metabolic process, $p<0,00001$).

Наряду с этим, в данной группе связанных кластеров генов зарегистрированы пути и биологические процессы, которые характерны только для данной группы.

К такой онтологии можно отнести KEGG путь «метаболизм азота» (hsa00910 – Nitrogen metabolism, $p=0,00429$). Значение окиси азота, ферментативного пути и метаболитов широко обсуждается в современной литературе как в аспекте патогенеза БА, так в оценке возможной роли данных субстанций в мониторинговании течения болезни и оценки риска обострений [133, 124, 105].

В исследовании Matsunaga K. et al., 2013 продемонстрировано, что выдыхаемая фракция оксида азота повышена у большинства тяжелых пациентов, несмотря на терапию ИКС и даже назначение СКС приводило к падению данного показателя только у половины пациентов [266]. Результаты этого исследования представляют особый интерес при их сопоставлении с данными оценки активности бета2-агонистов в условиях оксидативного стресса. Так, сразу в двух исследованиях, проведенных в 2009 и 2011 гг. продемонстрировано, что на фоне высокой пероксидазной активности и уровня оксида азота в дыхательных путях

при астме происходит нитрирование и, как следствие, изменение структурных и функциональных свойств таких бета2-агонистов как фенотерол, метапротеренол и сальбутамол [281, 47]. При этом нитрированный сальбутамол характеризуется сниженным аффинитетом к бета2-адренорецептору в сравнении с нативной молекулой лекарства [47].

Таким образом, данный механизм может лежать в основе недостаточной эффективности, как терапии скорой помощи, так и комбинированной терапии в составе ИКС и бета2-агониста длительного действия.

Отличительными онтологиями являются также биологические процессы «негативная регуляция секреции катехоламинов» (GO:0033604 – negative regulation of catecholamine secretion, $p=0,00188$), «секреция эпинефрина» (GO:0048242 - epinephrine secretion, $p=0,00188$) и молекулярная функция «активность рецептора стероидов» (GO:0003707 – steroid hormone receptor activity, $p=0,0164$). Таким образом, на фоне терапии высокими дозами ИКС, вероятно, по принципу обратной отрицательной связи наблюдается снижение экспрессии эндогенного эпинефрина и, как следствие, «ослабление» негативной регуляции секреции катехоламинов.

Однако регистрация генов онтологий, отражающих процессы эндогенной секреции кортикостероидов, вероятно, может свидетельствовать об их значении в механизмах резистентности к терапии ИКС.

Так, в 2005 году учеными Feng J.T. и Hu CP. на основе проведенных экспериментов была выдвинута гипотеза, согласно которой у астматиков нарушен процесс секреции эндогенного адреналина вследствие избыточной экспрессии фактора роста нерва, что приводит к снижению объема медуллярной ткани надпочечников [138].

В нескольких исследованиях продемонстрировано, что глюкокортикоиды способны индуцировать трансформацию норадреналина в адреналин [147, 43]. При этом высокие концентрации глюкокортикоидов оказывают протективное действие на процессы трансформации медуллярных клеток в нейроны [245, 169].

Сопоставление результатов этих исследований с паттерном изменения активности онтологий на основе оценки экспрессии генов (снижение экспрессии генов, формирующих биологические процессы в первые 12 недель терапии с дальнейшим ростом в оставшийся период), вероятно, может свидетельствовать о том, что на фоне терапии высокими дозами ИКС наблюдалась тенденция к снижению эндогенного эпинефрина базальные уровни которого исходно уже были снижены.

Таким образом, регуляция секреции эндогенных стероидов и процессы трансформации норадреналина в адреналин, по данным нашего исследования, могут рассматриваться как компоненты неэффективности к терапии ИКС при данной форме болезни.

Во второй группе связанных кластеров зарегистрировано 3 KEGG пути и 11 генных онтологий, вероятно, ассоциированных с механизмами астмы. Также как и в первой группе, большинство онтологий и характер изменения экспрессии генов, формирующих их, во времени оказались сопоставимыми с таковыми в группе ТЧБА.

К паттернам, характерным только для терапевтически резистентной формы болезни можно отнести отсутствие снижения экспрессии генов, формирующих KEGG путь «астма», который был зарегистрирован в составе сразу двух кластеров (hsa05310 – Asthma, $p=0,00013$ и $p=0,00064$). При интерпретации этого результата, необходимо отметить, что данный путь сформирован генами, которые имеют отношение к установленным механизмам патогенеза болезни, и в группе легкой БА на фоне терапии экспрессия генов, формирующих данный путь, закономерно снижалась в течение всего периода наблюдения. В группе ТРБА экспрессия генов данного пути в течение первых трех месяцев повышается, а ее постепенное снижение регистрируется только в оставшиеся 12 недель. Подобная картина может отражать низкую эффективность и длительный период реализации эффектов базисной противовоспалительной терапии.

Другим важным, с точки зрения механизмов астмы, KEGG путем, зарегистрированным в данной группе пациентов, является «инфекция

Staphylococcus aureus» (hsa05150 – *Staphylococcus aureus* infection, $p=0,02619$, $p=0,01580$).

При инфекционных заболеваниях верхних дыхательных путей показано, что энтеротоксин золотистого стафилококка индуцирует продукцию IgE, что посредством активации тучных клеток приводит к повышению активности воспаления [357].

В более поздних исследованиях показано, что данная модель персистенции воспаления применима и к астме. Так в 2011 г. Kowalski M.L. et al. опубликовано исследование ассоциации уровня энтеротоксин-специфического IgE *Staphylococcus aureus* с ТРБА и параметрами ее течения [101]. Так, в группе пациентов с терапевтической резистентностью уровень энтеротоксин-специфического IgE был в 3 раза выше в сравнении с терапевтически чувствительными пациентами. Более того, данный параметр был достоверно ассоциирован с более низкими показателями ФВД и более высокими показателями обратимости бронхиальной обструкции. Практически аналогичные результаты были воспроизведены в исследовании, проведенном Bachert C. et al. в 2012 году [302].

Таким образом, регистрация в сыворотке крови энтеротоксин-специфического IgE может свидетельствовать о вовлечении в патогенез тяжелой астмы суперантигена стафилококка.

Резюме

При проведении кластерного анализа группа легкой БА считалась «референсной» с точки зрения астмы, в связи с чем характеристика тяжелой и терапевтически резистентной формы болезни осуществлялась с учетом отличий от легкой БА.

На фоне терапии в группе ТЧБА повышается уровень экспрессии генов, формирующих биологические процессы, характеризующие активацию нейтрофилов и натуральных киллеров. Характеристика изменений экспрессии генов, формирующих «эффektorные» механизмы, состоящая в подавлении

экспрессии только во второй половине периода наблюдения, свидетельствует о задержке реализации эффектов базисной противовоспалительной терапии.

По результатам кластерного анализа в группе ТРБА для KEGG пути «Астма» (hsa05310) установлена закономерность изменения экспрессии генов в течение лечебного периода состоящая в повышении экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением во второй половине. Данная картина может отражать низкую эффективность или длительный период реализации эффектов базисной противовоспалительной терапии. Аналогичная закономерность изменения экспрессии на фоне лечения зарегистрирована для KEGG пути «инфекция *Staphylococcus aureus*» (hsa05150), что может свидетельствовать о вовлечении в патогенез терапевтически резистентной астмы суперантигена стафилококка.

Также в рамках кластерного анализа определен и ряд специфических механизмов ограничения эффективности ИКС и бета2-агонистов.

Глава 7. Обсуждение результатов

Тяжелая форма БА является нерешенной медико-социальной проблемой и привлекает внимание ученых во всем мире. Так, по данным поискового сервиса pubmed.gov (National Center for Biotechnology Information, Национальный центр биотехнологической информации США), только за последние пять лет по данной теме опубликовано около 700 различных научных работ.

Результаты проведенных исследований убедительно демонстрируют значительный прогресс в изучении различных аспектов патогенеза тяжелой БА. Исходя из накопленных на данный момент знаний, наиболее вероятными механизмами формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности, являются дисбаланс цитокинового профиля, резистентность к глюкокортикоидам, ангиогенез и ремоделирование бронхов, детерминация иммунного ответа в направлении Th2-звена.

Несмотря на это, обсуждать механизмы формирования тяжелой астмы и терапевтической резистентности с достаточной степенью ясности, не представляется возможным.

Одновременно с накоплением фундаментальных знаний о механизмах заболевания в течение последнего десятилетия произошли существенные изменения в подходах к лечению. Так, начиная с пересмотра рекомендательного документа GINA 2006 года, главной целью лечения стало достижение и поддержание контроля над болезнью, сформулирован и внедрен ступенчатый подход к фармакотерапии БА [12]. Спустя пять лет в пересмотре GINA 2011 года и более поздних его версиях, перечень препаратов в составе ступеней терапии не расширился, что может свидетельствовать об отсутствии персонализированного фармакотерапевтического подхода к терапии болезни, особенно в случае тяжелых форм [11].

При этом тяжелая форма БА достаточно классифицирована клинически: классификация клинических фенотипов S. Holgate, критерии терапевтической резистентности ATS, характеристика эндотипов астмы [255, 356, 45, 106].

С клинической точки зрения данные классификации могут помочь определить лишь прогноз, риски будущих обострений и необходимость коррекции плана мониторинга течения болезни, но не позволяют скорректировать фармакотерапевтический подход в связи с отсутствием знаний о патофизиологических механизмах, лежащих в основе формирования тяжелой астмы и ее фенотипов.

Таким образом, с большой долей вероятности можно утверждать, что в настоящее время накоплено значительное количество фундаментальных знаний, в которых раскрываются различные аспекты формирования тяжести болезни, однако подавляющее большинство этих данных не укладывается в единую концепцию и, как следствие, не реализуется в качестве таргетных терапевтических мишеней.

При обсуждении сложившейся ситуации необходимо учитывать три момента. Во-первых, проведенные исследования достаточно разнородны по своим целям, задачам, и методам, выполнены на неоднородных выборках пациентов с точки зрения степени тяжести и/или уровне контроля болезни субъектов, все это не позволяет объединить результаты этих исследований и сформировать полную теоретическую концепцию. Во-вторых, опубликовано достаточно ограниченное количество исследований, в которых в качестве субъектов выступали пациенты с тяжелой терапевтически резистентной БА или представители фенотипов тяжелой астмы. В-третьих, подавляющее большинство исследований являются одномоментными, что не позволяет определить динамику изменения молекулярных и генетических профилей в ответ на фармакотерапию астмы.

Для получения новых научных данных в этой выпадающей части научных исследований нами проведено проспективное интервенционное исследование в параллельных группах с продолжительностью лечебного периода 6 месяцев.

Целью данного исследования является определение молекулярных механизмов формирования тяжелой формы бронхиальной астмы и терапевтической резистентности в рамках оценки полногеномной характеристики уровня экспрессии генов исходно и в динамике на фоне терапии.

Данное исследование является пилотным, так как работ, в которых бы проводилась полногеномная оценка экспрессии генов в динамике, у данной группы пациентов до сих пор в мире не проводилось.

Исследование состояло из трех этапов. На первом этапе проведено проспективное, интервенционное, клиническое исследование в параллельных группах, в рамках которого описана клиническая характеристика изучаемой группы больных, выполнена сравнительная оценка динамики клинико-функциональных показателей и уровня контроля в течение периода наблюдения длительностью 6 месяцев. По окончании лечебного периода апостериорно в соответствии с критериями ATS в группе тяжелой БА выделена группа терапевтически резистентных пациентов [270].

Проведение контролируемого исследования с апостериорной стратификацией позволило сформировать репрезентативную выборку больных легкой и тяжелой бронхиальной астмой. Учитывая полногеномный характер исследования и, как следствие, ограниченную выборку с методологической точки зрения первый этап является предельно важным для успеха проекта. В связи с этим данный этап выполнен по единому протоколу клинического исследования, разработанному в соответствии с принципами Надлежащей клинической практики, прошедшим этическую экспертизу. Данный этап выполнялся на базе СибГМУ под руководством доктора медицинских наук, профессора Огородовой Л.М.

Второй этап исследования проведен на базе Национального Института Сердца и Легкого (Лондон, Великобритания) в рамках совместного проекта с лабораторий молекулярной генетики и геномики (руководители – профессор В.О. Куксон и М.Ф. Моффатт). Этот этап заключался в проведении полногеномного анализа экспрессии генов в периферической крови у исследованных больных с использованием микрочипов Affymetrix.

Метод анализа глобальной экспрессии генов человека с помощью технологии микрочипов в настоящее время является наиболее широко-используемым и аналитически точным методом исследования в этой области. Выбранный для

данного проекта микрочип содержит пробы для анализа примерно одного миллиона экзонов генома человека и предназначен для высокоразрешающего анализа уровня генной экспрессии, включая анализ изоморфизма на основе характеристики событий сплайсинга на уровне всего генома.

В рамках третьего этапа выполнен сравнительный анализ профилей генной экспрессии в группах с разной степенью тяжести БА и в динамике на фоне лечения, проведена оценка вклада генетической составляющей в детерминацию развития тяжелой формы заболевания и терапевтической резистентности, оценена связь между экспрессией генов и эффективностью противоастматической терапии у пациентов с тяжелой БА.

В соответствии с поставленной целью сформированы репрезентативные выборки легкой персистирующей и тяжелой БА. Размер выборки является достаточным для достижения цели исследования и соотносится с данными современных мировых исследований [134, 333].

Клинический этап исследования позволил установить, что в группе тяжелой астмы половина пациентов к окончанию лечебного периода продолжительностью 24 недели не достигла критериев контроля болезни и соответствовала критериям терапевтической резистентности.

В целом в группе тяжелой БА на фоне терапии через 4 недели контроля болезни достигли 15% пациентов, через 12 недель – 45%, а к окончанию периода наблюдения течение болезни расценивалось как контролируемое только у половины пациентов данной группы.

Сравнительный анализ динамики клинико-функциональных показателей и уровня контроля болезни в течение периода наблюдения у терапевтически чувствительных и резистентных пациентов продемонстрировал, что у чувствительных пациентов статистически значимое улучшение основных клинико-функциональных показателей зарегистрировано к моменту Визита 2 (4 недели) и в дальнейшем положительная динамика сохранялась. При этом к окончанию периода наблюдения значения ОФВ₁ достигли условных возрастных норм, а проявление клинических симптомов было минимальным.

В группе терапевтически резистентных пациентов в течение первых четырех недель лечебного периода зарегистрирована наибольшая динамика клинико-функциональных показателей и уровня контроля, а в последующий период динамика хоть и была положительной, но носила менее выраженный характер.

Необходимо учитывать, что формирование данных групп в соответствии с дизайном исследования было апостериорным, и изначально пациенты, распределенные в группу терапевтической резистентности, имели признаки более тяжелого течения заболевания.

Такой результат клинической части работы в некоторой мере соответствует данным, полученным нами в рамках предыдущих исследований. Так, по данным исследования СТРЕЛА-АСТ в условиях реальной клинической практики регулярная базисная противовоспалительная терапия обеспечивала достижение критериев контроля заболевания в 69,4-73,3% случаев [28, 34, 15]. Таким образом, не достигал контроля практически каждый третий пациент. Однако необходимо учитывать, что в приведенное исследование были включены пациенты всех степеней тяжести, использовались значительно менее строгие критерии отбора, и оно было проведено в условиях реальной клинической практики.

При проведении данного контролируемого интервенционного исследования тяжелой БА установлено, что половина пациентов не достигает контроля болезни и по окончании лечебного периода продолжительностью 6 месяцев соответствует критериям терапевтической резистентности (ATS, 2000). Также необходимо отметить, что группа терапевтически резистентных пациентов характеризовалась незначительной положительной динамикой клинико-функциональных показателей и уровня контроля на фоне адекватной степени тяжести базисной противовоспалительной терапии.

Полученные на этом этапе данные свидетельствуют о наличии молекулярных механизмов персистенции воспаления при тяжелой и терапевтически резистентной БА, отличных от таковых при легкой астме.

Для идентификации данных механизмов персистенции воспаления проведен сравнительный анализ профилей генной экспрессии в сравниваемых группах и в динамике на фоне проводимой терапии. Методологически данный анализ можно разделить на несколько этапов: 1) оценка дифференциальной экспрессии генов, 2) характеристика генных онтологий и KEGG путей и 3) кластерный анализ временной динамики генной экспрессии.

В рамках оценки дифференциальной экспрессии генов анализ транскриптома идентифицировал 1388 генов, экспрессия которых статистически значимо различалась между группами легкой БА, ТЧБА и ТРБА. Такая «количественная» характеристика различий сопоставима с результатами исследования Orsmark-Pietras С., проведенного в 2013 году, которое выполнено на детской группе больных [333].

Наибольшее число генов со специфичной дифференциальной экспрессией зарегистрировано между тяжелой терапевтически резистентной и легкой персистирующей БА (n=1201). Значительно меньшее количество генов дифференциально экспрессирующихся генов зарегистрировано при сравнении тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной астмы (n=18), а также тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА (n=49).

Наблюдаемые различия в количестве генов со специфичной экспрессией могут свидетельствовать о том, что легкая и тяжелая формы болезни различаются вовлечением большего количества физиологических и метаболических путей, лежащих в основе формирования тяжести, а в основе формирования терапевтической резистентности в группе тяжелой астмы лежит значительно меньшее количество таких процессов.

При сравнении групп в перечне дифференциально экспрессирующихся генов с высоким уровнем достоверной вероятности зарегистрированы гены, функция которых может иметь отношение к механизмам развития астмы. К данному перечню относятся гены *USP9Y*, *NLRP2*, *GSTM*, *LILRA5*, *HLA-DQB1*, *C17orf60*, *LAT*, *GATA3* и другие. При этом для двух из этих генов (*GSTM*, *HLA-DQB1*) ассоциация с астмой установлена по данным ранее опубликованных исследований

других авторов [134]. Большинство из этих генов регистрировались сразу в нескольких сравниваемых группах.

В течение периода наблюдения (24 недели) общее количество генов с дифференциальной экспрессией изменялось и к окончанию периода наблюдения на фоне базисной противовоспалительной терапии их количество возросло с 1388 до 4041 гена. Также к окончанию лечебного периода зарегистрировано 1209 генов, характеризующихся отличием в уровне экспрессии у больных тяжелой терапевтически резистентной астмой по сравнению с пациентами других сравниваемых групп.

Полученные данные свидетельствуют о том, что исходно сравниваемые группы характеризуются различными профилями экспрессии генов, что может отражать и наличие различных механизмов персистенции воспаления. А в течение периода наблюдения на фоне базисной противовоспалительной терапии эти различия нарастают преимущественно за счет изменения экспрессии генов в группе терапевтически резистентной БА.

Таким образом, установлено, что сравниваемые группы больных БА характеризуются различными профилями генной экспрессии, однако такой анализ дает лишь количественное представление о различиях между группами. Для характеристики молекулярных и биологических паттернов различий, отражающихся на уровне генной экспрессии, проведен анализ генных онтологий (биологические процессы и молекулярные функции) и KEGG путей.

Генная онтология - это проект, посвященный унификации функциональных характеристик генов и генных продуктов всех биологических видов. В рамках рассмотрения генных онтологий биологический процесс представляет собой ряд событий, обусловленных одной или несколькими молекулярными функциями. В то время как молекулярная функция описывает активность на молекулярном уровне вне связи с местом и контекстом реализации данной функции.

С использованием Киотской Энциклопедии Генов и Геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) проанализированы KEGG пути (KEGG pathway). Данная база объединяет всю известную информацию о

молекулярных взаимодействиях. Генные онтологии и KEGG пути проанализированы с учетом направления изменения экспрессии (повышение или снижение).

Для определения молекулярных механизмов персистенции воспаления при тяжелой БА нами проведен анализ генных онтологий в сравнении с легкой БА и кластерный анализ временной динамики генной экспрессии.

При сравнении больных с тяжелой терапевтически чувствительной и легкой БА определены генные онтологии, характеризующие функциональные изменения, способные вносить вклад в формирование тяжести болезни и ответа на фармакотерапию астмы.

Всего можно выделить 4 наиболее значимых онтологии, активность которых была изменена. Установлено повышение активности таких биологических процессов как метаболизм ксенобиотиков и сульфатирование.

Показано снижение активности генов, ассоциированных с такими процессами как «сигнальный путь интерферона 1 типа» и «ответ на вирус» у пациентов с тяжелой терапевтически чувствительной формой болезни в сравнении с легкой астмой.

Эти онтологии ассоциированы со снижением экспрессии целого ряда генов, ответственных за синтез белков, обеспечивающих противовирусный иммунитет – *IFITM3* (вирус гриппа А, H1N1, вирус западного Нила, тропическая лихорадка), *MX1* (вирус гриппа), *OAS3*, *IFITM1* (вирус гриппа А, SARS коронавирус и др.), а также участвующих в регуляции апоптоза – *IFI6* и *IFITM1*.

В связи с этим, снижение данных биологических процессов в группе тяжелой БА может быть основой предрасположенности пациентов данной группы к вирусным инфекциям, что может быть причиной неконтролируемого течения болезни и частых обострений.

В ряде исследований продемонстрирована сниженная индукция интерферонов 1 и 3 типов вирусами семейства риновирус у пациентов с тяжелой БА. В культуре клеток пациентов с тяжелой астмой на фоне высокой вирусной нагрузки регистрировались низкие уровни мРНК интерферонов. Более того, в

неинфицированных клетках данной группы пациентов оказались сниженными уровни мРНК Toll-like рецептора-3, индуцибельного гена ретиноидной кислоты и меланома-ассоциированного гена 5, что может свидетельствовать о врожденном дефекте противовирусного ответа при тяжелой БА [184]. Наряду с этим в ряде исследований на модели астмы у животных продемонстрирована способность интерферонов подавлять эозинофилию в слизистой дыхательных путей и неспецифическую БГР [188, 187].

Оказался ослабленным и такой важный биологический процесс, относящийся к механизмам астмы, как «регуляция программируемой клеточной гибели», что может лежать в основе формирования тяжести болезни, вне зависимости, от преобладания эффекторной клетки (эозинофил или нейтрофил).

Считается доказанным, что при БА количество апоптотически измененных эозинофилов прогрессивно уменьшается с нарастанием степени тяжести заболевания [275, 277]. При этом супрессия апоптоза сочетается с преобладанием некротического пути гибели клеток и высвобождением провоспалительных цитокинов и медиаторов [20, 121, 135]. Данные изменения апоптоза характерны и для нейтрофилов [248, 338, 46].

В работах, выполненных ранее в СибГМУ, подтверждаются данные о снижении апоптотической гибели эозинофилов, наиболее выраженные у пациентов с тяжелой БА, а также выявлен ряд специфических механизмов нарушения апоптоза, особенно в группе больных с неконтролируемой астмой, связанный с дисбалансом анти- и проапоптотических факторов, что может лежать в основе формирования тяжести болезни [14, 275]. Различные молекулярные механизмы, активирующие апоптоз, в настоящее время рассматриваются в качестве терапевтической мишени для лечения БА [139].

Также зарегистрировано снижение таких биологических процессов и молекулярных функций как «врожденный иммунный ответ», «хемотаксис», «активность рецепторов С-С хемокинов», «связывание хемокинов». Процессы, характеризующиеся этими генными онтологиями, лежат в основе механизма «классического» провоспалительного каскада при БА. Снижение активности этих

процессов в группе тяжелой астмы позволяет с большой вероятностью судить о том, что в основе тяжелой БА лежат механизмы воспаления, отличные от таковых при заболевании легкой степени тяжести.

С целью оценки динамики генной экспрессии в течение лечебного периода для определения молекулярно-генетических механизмов формирования терапевтической резистентности проведен кластерный анализ временных рядов. В ходе проведенного анализа для каждой из сравниваемых групп проанализировано 5000 наиболее изменчивых генов, которые в результате определения общих закономерностей изменения экспрессии во времени сформировали 9 кластеров.

При проведении кластерного анализа группа легкой БА считалась «референсной» с точки зрения астмы, в связи с чем характеристика тяжелой и терапевтически резистентной формы болезни осуществлялась с учетом отличий от легкой БА.

Применение данного подхода было обоснованным с позиции следующих результатов. В группе легкой БА на фоне терапии уже через 4 недели контроля болезни достигли 60% пациентов, а с Визита 3 (12 недель) и до конца периода наблюдения у всех пациентов течение болезни расценивалось как контролируемое. Принадлежность пациента к группе легкой БА и наблюдаемая динамика клинико-функциональных параметров течения болезни дали нам основание предположить, что изменения экспрессии генов в динамике являются характерными для данной группы пациентов и являются отражением изменения активности на фоне регулярной базисной противовоспалительной терапии. Наше предположение находит подтверждение в постепенном снижении экспрессия генов, формирующих KEGG путь «астма» (hsa05310), который ассоциирован с генами, имеющими отношение к установленным механизмам патогенеза БА, что отражает динамику генной активности в ответ на терапию ИКС у пациентов с легкой астмой.

По сравнению с легкой БА в группе тяжелой терапевтически чувствительной астмы по результатам кластерного анализа зарегистрировано значительно большее количество генных онтологий, ассоциированных с механизмами

заболевания. Это может свидетельствовать о более сложной регуляции воспаления и вовлеченности дополнительных механизмов.

По данным нашего исследования в группе ТЧБА в течение первых трех месяцев терапии снижалась, а затем постепенно увеличивалась экспрессия генов, участвующих в процессах преимущественно пяти функциональных направлений – регуляция иммунного ответа, изменение активности Т-клеток, активация натуральных киллеров, активация нейтрофилов и регуляция апоптоза.

В данной группе пациентов на фоне регулярной базисной терапии в течение первых 12 недель наблюдалось подавление экспрессии начальных фаз иммунного ответа (пролиферация В-клеток, связывание антигена и хемокинов) с последующим повышением экспрессии, вероятно, в связи с активацией компенсаторных механизмов.

В то же время характеристика изменений экспрессии генов, формирующих «эффektorные» механизмы (воспалительный ответ, продукция цитокинов, активность хемокинов и их рецепторов), состоящая в подавлении экспрессии только во второй половине периода наблюдения, свидетельствует о задержке реализации эффектов и, как следствие, о том, что длительность терапии в стабильной дозе у данной группы пациентов не должна быть менее 6 месяцев.

Также на фоне терапии с течением времени нарастала негативная регуляция дифференцировки и активации альфа-бета Т-клеток. Задержка изменения экспрессии в первой половине лечебного периода может свидетельствовать как об исходной высокой активности данных процессов, так и о задержке реализации эффектов терапии. При этом необходимо отметить, что на сегодняшний день опубликован целый ряд исследований, в которых показана ассоциация тяжести течения болезни с уровнем Т-клеток, их фенотипами и секретируемыми цитокинами [185, 256, 110, 293].

Экспрессия генов, формирующих биологические процессы, характеризующие активацию нейтрофилов и регуляцию апоптоза в процессе терапии, нарастала. Данная картина отражает преобладающий паттерн нейтрофильного воспаления при тяжелой астме, что может являться причиной

недостаточной эффективности ИКС, которые действуют преимущественно на эозинофильный компонент [221, 237]. С другой стороны, в нескольких исследованиях продемонстрировано, что монотерапия ИКС в высоких дозах ассоциирована с достоверным приростом количества нейтрофилов в очаге воспаления, в то время как добавление сальметерола приводило к стабилизации их числа [265]. Однако, в нашем исследовании, данный эффект сальметерола не был реализован и в течение периода наблюдения на фоне комбинированной терапии, экспрессия генов, контролирующая активность нейтрофилов, нарастала.

Также на фоне терапии увеличивалась экспрессия генов, формирующих процессы, ответственные за активацию и цитотоксичность натуральных киллеров.

После активации НК способны синтезировать и высвобождать широкий спектр преимущественно провоспалительных цитокинов, их активность ассоциирована с БГР и модуляцией Th2-клеток, в настоящее время в патогенезе астмы им все чаще отводится роль модуляторов воспаления [328, 339, 325].

Роль этих клеток в патогенезе астмы у человека подтверждается регистрацией данных клеток в легких у пациентов с плохо контролируемым течением болезни [241]. Максимальную цитотоксическую активность НК проявляют в присутствии нейтрофилов, которые являются основной эффекторной клеткой при тяжелой форме болезни, по данным многочисленных исследований [236, 238, 229]. Необходимо отметить, что для реализации своих функций они не требуют предварительной сенсилизации [201]. Поэтому у данных пациентов основной причиной неконтролируемого течения болезни могут быть Th-2 независимые факторы, такие как вирусные инфекции, загрязнение воздуха и физическая нагрузка.

Таким образом, по результатам настоящего исследования, на основании оценки направления изменения экспрессии генов, формирующих биологические процессы и молекулярные механизмы, факторами персистенции воспаления при тяжелой терапевтически чувствительной БА являются:

- ослабление противовирусного иммунитета;

- снижение регуляции программируемой клеточной гибели на фоне активации нейтрофилов;
- активация натуральных киллеров.

Для определения молекулярных механизмов формирования терапевтической резистентности при БА проведен анализ генных онтологий в сравнении с терапевтически чувствительной БА и кластерный анализ.

В рамках анализа генных онтологий при сравнении больных с тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной формой болезни выявлены несколько процессов и функций, изменение которых способны вносить вклад в формирование тяжести болезни и ответа на фармакотерапию астмы.

Одним из наиболее значимых биологических процессов в данном аспекте является «активация натуральных киллеров». Активность этого процесса с учетом изменения экспрессии ассоциированного с ней гена оказалась повышенной в группе терапевтически чувствительной БА, что может свидетельствовать о ее снижении в группе тяжелой терапевтически резистентной астмы.

В аспекте рассмотрения данного феномена, как механизма формирования терапевтической резистентности, представляют интерес исследования НК на моделях астмы у животных, в которых продемонстрировано, что присутствие НК необходимо не только для развития аллерген-индуцированной гиперреактивности бронхов, но и для разрешения воспалительного процесса в бронхах [94, 163].

Таким образом, одним из компонентов формирования терапевтической резистентности при БА может являться недостаточная активность НК, вследствие снижения экспрессии иммуноглобулин-подобного рецептора НК.

По результатам кластерного анализа для KEGG путей «астма» (hsa05310) и «инфекция *Staphylococcus aureus*» (hsa05150), которые были характерны только для группы ТРБА, установлена закономерность изменения экспрессии генов в течение лечебного периода состоящая в повышении экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим снижением во второй половине.

Необходимо отметить, что KEGG путь «астма» сформирован генами, имеющими отношение к установленным механизмам патогенеза болезни. В

группе легкой БА на фоне терапии экспрессия генов, формирующих данный путь, снижалась в течение всего периода наблюдения. В группе ТРБА экспрессия генов данного пути в течение первых трех месяцев повышалась и постепенно снижалась только в оставшиеся 12 недель. Данная картина может отражать низкую эффективность или длительный период реализации эффектов базисной противовоспалительной терапии.

В последнее время роль бактериальной инфекции, как потенциального фактора риска формирования тяжелой БА и триггера обострения у детей и взрослых, широко обсуждается в литературе.

Так, например, установлено, что дефицит экспрессии T-bet способствует колонизации дыхательных путей инфекционными агентами (*Mycoplasma pneumoniae*), что может являться предиктором неконтролируемого течения заболевания и формирования терапевтической резистентности [354]. Также дефицит T-bet у мышей, лишенных гена данного фактора, приводит к большей подверженности инфицированию *Mycobacterium tuberculosis* [313].

Анализ литературы позволил установить для золотистого стафилококка специфичные механизмы, которые способны оказывать влияние непосредственно на иммунное звено воспаления.

Так, при инфекционных заболеваниях верхних дыхательных путей показано, что энтеротоксин золотистого стафилококка индуцирует продукцию IgE, что посредством активации тучных клеток приводит к повышению активности аллергического воспаления [357].

В более поздних исследованиях показано, что данная модель персистенции воспаления применима и к астме. Так в 2011 г. Kowalski M.L. et al. опубликовано исследование ассоциации уровня энтеротоксин-специфического IgE *Staphylococcus aureus* с ТРБА и параметрами ее течения [101]. Так, в группе пациентов с терапевтической резистентностью уровень энтеротоксин-специфического IgE был в 3 раза выше в сравнении с терапевтически чувствительными пациентами. Более того, данный параметр был достоверно ассоциирован с более низкими показателями ФВД и более высокими

показателями обратимости бронхиальной обструкции. Практически аналогичные результаты воспроизведены в исследовании, проведенном Bachert C. et al. в 2012 году [302].

В связи с этим, регистрация в сыворотке крови энтеротоксин-специфического IgE может свидетельствовать о вовлечении в патогенез терапевтически резистентной астмы суперантигена стафилококка.

В целом, по результатам настоящего исследования, на основании оценки направления изменения экспрессии генов, формирующих биологические процессы и молекулярные механизмы, факторами формирования резистентности являются:

- снижение активности натуральных киллеров;
- вовлечение в патогенез суперантигена стафилококка.

При определении молекулярных механизмов формирования тяжелой формы болезни и феномена терапевтической резистентности в рамках данного исследования определен ряд признаков молекулярно-генетических паттернов ограничения эффективности ИКС и бета2-агонистов при тяжелых формах болезни.

В течение многих лет рецепторы кортикостероидов и бета2-агонистов являются практически единственными терапевтическими мишенями при БА. Препараты данных групп входят в состав всех ступеней терапии, рекомендованных GINA [11]. На основании оценки эффективности данных групп препаратов диагностируется феномен терапевтической резистентности. Однако, несмотря на значительный прогресс в области клинической фармакологии, использование других терапевтических мишеней в клинической практике достаточно ограничено.

В рамках данного исследования установлено повышение активности таких биологических процессов как метаболизм ксенобиотиков и сульфатирование, высокая активность которых, может быть причиной укорочения периода полувыведения лекарственных препаратов, обуславливая недостаточную эффективность терапии в стандартных терапевтических дозировках.

Подтверждение этих данных в рамках фармакокинетических исследований может стать обоснованием для изменения назначаемых объемов терапии и изменения режима (кратности) приема препаратов у пациентов с тяжелой формой болезни.

Недостаточная эффективность и длительные периоды реализации эффектов находят отражение в уровне экспрессии генов на фоне противовоспалительной терапии. Так, например, при тяжелой БА экспрессия генов, формирующих «эффекторные» механизмы (воспалительный ответ, продукция цитокинов, активность хемокинов и их рецепторов), подавляется только через 3 месяца лечения. А при терапевтически резистентной форме экспрессия генов KEGG пути «астма» в течение первых трех месяцев повышается, и только после этого наблюдается ее постепенное снижение.

Данная картина может отражать низкую эффективность или длительный период реализации эффектов базисной противовоспалительной терапии. В связи с этим длительность терапии в стабильной дозе у данной группы пациентов не должна быть менее 6 месяцев.

Также определен и ряд специфичных механизмов ограничения эффективности ИКС и бета2-агонистов.

Так, по результатам кластерного анализа отличительными онтологиями для терапевтически резистентной формы болезни были KEGG путь «метаболизм азота» (hsa00910) и ряд биологических процессов и молекулярных функций, отражающих регуляцию катехоламинов. При этом для вышеописанных онтологий была характерна закономерность, состоящая в различной степени выраженности снижения экспрессии в первые 12 недель терапии с дальнейшим повышением во второй половине лечебного периода.

Значение окиси азота, его ферментативного пути и метаболитов, широко обсуждается в современной литературе как в аспекте патогенеза БА, так в оценке возможной роли данных субстанций в мониторинговании течения болезни и оценки риска обострений [133, 124, 105].

В исследовании Matsunaga K. et al., 2013 продемонстрировано, что выдыхаемая фракция оксида азота повышена у большинства тяжелых пациентов,

несмотря на терапию ингаляционными кортикостероидами (ИКС), и даже назначение системных кортикостероидов приводило к падению данного показателя только у половины пациентов [266]. Результаты этого исследования представляют особый интерес при их сопоставлении с данными оценки активности бета2-агонистов в условиях оксидативного стресса. Так, в двух исследованиях, проведенных в 2009 и 2011 гг., продемонстрировано, что на фоне высокой пероксидазной активности и уровня оксида азота в дыхательных путях при астме происходит нитрирование и, как следствие, изменение структурных и функциональных свойств таких бета2-агонистов как фенотерол, метапротеренол и сальбутамол [281, 47]. При этом нитрированный сальбутамол характеризуется сниженным аффинитетом к бета2-адренорецептору в сравнении с нативной молекулой лекарства [47].

Таким образом, данный механизм может лежать в основе недостаточной эффективности, как терапии скорой помощи, так и комбинированной терапии в составе ИКС и бета2-агониста длительного действия.

Снижение экспрессии эндогенного эпинефрина и, как следствие, «ослабление» негативной регуляции секреции катехоламинов наблюдается, вероятно, на фоне терапии высокими дозами ИКС по принципу обратной отрицательной связи.

Регистрация генных онтологий, отражающих процессы эндогенной секреции кортикостероидов, может свидетельствовать об их значении в механизмах резистентности к терапии ИКС.

Так, в 2005 году Feng J.T. и Hu C.P. на основе проведенных экспериментов выдвинута гипотеза, согласно которой у больных астмой нарушен процесс секреции эндогенного адреналина, что приводит к снижению объема медуллярной ткани надпочечников [138].

В нескольких исследованиях продемонстрировано, что глюкокортикоиды способны индуцировать трансформацию норадреналина в адреналин [147, 43]. При этом высокие концентрации глюкокортикоидов оказывают протективное действие на процессы трансформации медуллярных клеток в нейроны [245, 169].

Сопоставление результатов этих исследований с паттерном изменения активности генных онтологий на основе оценки экспрессии генов (снижение экспрессии генов, формирующих биологические процессы в первые 12 недель терапии с дальнейшим ростом в оставшийся период), вероятно, может свидетельствовать о том, что на фоне терапии высокими дозами ИКС наблюдалась тенденция к снижению эндогенного эпинефрина, базальные уровни которого исходно уже были снижены.

Таким образом, регуляция секреции эндогенных стероидов и процессы трансформации норадреналина в адреналин, по данным нашего исследования, могут рассматриваться как компоненты неэффективности терапии ИКС при данной форме болезни.

Данное исследование выполнено по строгому клиническому протоколу с использованием современных и высокотехнологичных методов транскриптомных исследований. В качестве субъектов исследования выступали пациенты с тяжелой терапевтически чувствительной и тяжелой терапевтически резистентной формой болезни. Впервые транскриптомное исследование при данной нозологии проведено в динамике, что позволило оценить изменения молекулярных и генетических профилей в ответ на фармакотерапию астмы. Применение данных подходов в рамках одного исследования позволило свести к минимуму методологические ограничения и определить наиболее вероятные механизмы формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности.

Заключение

Идентифицированные молекулярные механизмы и генетические характеристики позволят сфокусировать внимание научной общественности на перспективных направлениях изучения механизмов тяжелой БА и феномена терапевтической резистентности, открывают возможности применения новых терапевтических мишеней. Наряду с высокой теоретической ценностью данные, полученные в рамках исследования, позволят оптимизировать мероприятия мониторинга и фармакотерапевтические подходы тяжелых форм БА.

Концепция исследования

Анализируя данные современных исследований, посвященных изучению механизмов формирования БА, с большой долей вероятности можно утверждать, что в основе тяжелой БА лежат патофизиологические механизмы, отличные от таковых при легкой и среднетяжелой формах болезни. Данные механизмы и являются основой формирования неконтролируемого течения и терапевтической резистентности, в связи с чем, отсутствует возможность достижения контроля болезни на фоне применения адекватной базисной противовоспалительной терапии, действующей на основные терапевтические мишени – рецепторы кортикостероидов и бета2-агонистов [298, 228].

В течение уже нескольких десятилетий рецепторы кортикостероидов и бета2-агонистов являются практически единственными терапевтическими мишенями при БА. Лекарственные препараты, действующие на данные мишени, входят в состав всех рекомендованных ступеней лечения, а степень клинического ответа на терапию является критериями контролируемого течения болезни и феномена терапевтической резистентности. С учетом этого с большой долей вероятности можно утверждать, что патогенетические механизмы тяжелых форм БА лежат вне зоны реализации эффектов данных групп препаратов.

Опубликованы результаты исследований, посвященных идентификации молекулярных механизмов, которые могли бы быть использованы как в диагностических целях, так и стать новыми таргетными мишенями терапии БА [298, 228]. Но количество таких работ, выполненных в группе ТРБА, достаточно ограничено, и, как правило, каждое отдельное исследование характеризует только один биомаркер, не оценивая изменения и дисбаланс в молекулярных воспалительных каскадах в целом при данной форме болезни.

С целью минимизации методологических ограничений нами было спланировано и проведено по единому протоколу проспективное, интервенционное, клиническое исследование в параллельных группах длительностью 6 месяцев. А применение проспективного анализа полногеномной экспрессии генов с сопоставлением клинико-функциональных параметров

течения болезни на фоне терапии позволило существенно расширить «область поиска» и установить наиболее вероятные механизмы формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности.

По результатам настоящего исследования факторами персистенции воспаления при ТЧБА являются ослабление противовирусного иммунитета, снижение регуляции программируемой клеточной гибели на фоне активации нейтрофилов и активация натуральных киллеров. А факторами формирования феномена терапевтической резистентности являются снижение активности натуральных киллеров и вовлечение в патогенез суперантигена стафилококка.

Наряду с идентификацией новых механизмов, в рамках проведенного полногеномного исследования, установлено, что тяжелая терапевтически чувствительная и резистентная БА ассоциированы с молекулярными механизмами ограничения эффективности ИКС и ДДБА, такими как повышение активности метаболизма ксенобиотиков и сульфатирование, нитрирование молекул ДДБА и подавление секреции эндогенного эпинефрина.

Выводы

1. При проведении контролируемого клинического исследования установлено, что 50% пациентов с тяжелой БА не достигает контроля болезни и по окончании лечебного периода продолжительностью 6 месяцев соответствует критериям терапевтической резистентности. Группа терапевтически резистентных пациентов характеризуется значительно менее выраженной динамикой клинико-функциональных показателей и отсутствием достижения контроля в сравнении с терапевтически чувствительными пациентами на фоне базисной противовоспалительной терапии.
2. Все сравниваемые группы характеризуются различными исходными профилями экспрессии генов, в рамках периода наблюдения на фоне базисной противовоспалительной терапии эти различия нарастают преимущественно за счет изменения экспрессии генов в группе терапевтически резистентной БА.

3. В группе тяжелой терапевтически чувствительной БА установлено снижение активности генов, ассоциированных с такими процессами, как «сигнальный путь интерферона 1 типа», «ответ на вирус» и «регуляция программируемой клеточной гибели». В группе тяжелой терапевтически резистентной БА установлено снижение активности генов, ассоциированных с биологическим процессом «активация натуральных киллеров».
4. На фоне терапии в группе тяжелой терапевтически чувствительной БА повышается уровень экспрессии генов, формирующих биологические процессы, характеризующие активацию нейтрофилов и натуральных киллеров. Группа терапевтически резистентной БА характеризуется повышением в первые 12 недель терапии и последующим снижением уровня экспрессии генов, формирующих KEGG путь «инфекция *Staphylococcus aureus*».
5. Ряд генетических характеристик свидетельствует о наличии механизмов, ограничивающих эффективность ИКС и ДДБА в случае тяжелых форм болезни – высокая активность метаболизма ксенобиотиков, нитрирование ДДБА, регуляция секреции эндогенных стероидов, задержка реализации эффектов терапии.

Список сокращений и условных обозначений

АПФ	ангиотензинпревращающий фермент
АТФ	аденозинтрифосфат
БА	бронхиальная астма
БАЛ	бронхоальвеолярный лаваж
БГР	бронхиальная гиперреактивность
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ГКР	глюкокортикоидный рецептор
ГМ-КСФ	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ГЭРБ	гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь
ДДБА	длительно действующие бета2-агонисты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИКС	ингаляционные кортикостероиды
ИЛ	интерлейкин
ИМТ	индекс массы тела
ИФН	интерферон
КАП	кожные аллергопробы
КДБА	коротко действующие бета2-агонисты
кДНК	комплементарная ДНК
МОС	минутная объемная скорость
мРНК	матричная рибонуклеиновая кислота
НК	натуральный киллер
НПВС	нестероидные противовоспалительные средства
НЯ	нежелательное явление
ОФВ1	объем форсированного выдоха за первую секунду
ПГАИ	полногеномное ассоциативное исследование
ПКА	протеинкиназа А
ПСВ	пиковая скорость выдоха
p53	белок p53
РФ	Российская Федерация
СКС	системные кортикостероиды
СНЯ	серьезное нежелательное явление
СПБ	среднесуточная проходимость бронхов
США	Соединенные штаты Америки
ТРБА	терапевтически резистентная бронхиальная астма
ТФ	транскрипционный фактор

ТЧБА	терапевтически чувствительная бронхиальная астма
ФВД	функция внешнего дыхания
ФЖЕЛ	форсированная жизненная емкость легких
ФНО	фактор некроза опухолей
ФП	флутиказона пропионат
цАМФ	циклический аденозинмонофосфат
AP-1	activator protein 1 (транскрипционный фактор активатор протеина 1)
ATS	American Thoracic Society (Американское торакальное общество)
CD	cluster designation (маркеры клеточной поверхности лейкоцитов)
CI	confidence interval (доверительный интервал)
DALY	Disability-adjusted life year (количество лет жизни, скорректированных по нетрудоспособности)
ECP	eosinophil cationic protein (эозинофильный катионный протеин)
ENFUMOSA	European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma (Европейское многоцентровое исследование клинического фенотипа тяжелой БА)
FC	fold-change (кратное изменение)
FcεRI	high-affinity IgE receptor (высокоаффинный рецептор IgE)
FcεRII	low-affinity receptor for IgE (низкоаффинный рецептор IgE)
FDR	False Discovery Rate (средняя доля ложных отклонений гипотезы)
GATA-3	транскрипционный фактор GATA-3
GINA	The Global Initiative for Asthma (регламентирующий документ «Глобальная инициатива по астме»)
GO	gene ontology (генная онтология)
GOAL	Gaining Optimal Asthma Control (Достижение оптимального контроля над астмой)
HIF-1α	hypoxia-inducible factor 1-alpha (индуцированный гипоксией транскрипционный фактор-1-альфа)
HLA	human leucocyte antigens (человеческие лейкоцитарные антигены)
IgE	иммуноглобулин класса E
IL-12Rβ2	рецептор бета 2 ИЛ-12

IL-13Ralpha1	рецептор альфа 1 ИЛ-13
IL-13Ralpha2	рецептор альфа 2 ИЛ-13
IL-4Ralpha	рецептор альфа ИЛ-4
ISAAC	International Study of Asthma and Allergies in Childhood (Международное исследование астмы и аллергии у детей)
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (Киотская Энциклопедия Генов и Геномов)
MAPK	mitogen-activated protein kinase (митоген-активируемая протеинкиназа)
MBP	major basic protein (главный основной протеин)
MMP	matrix metalloproteinase (металлопротеиназы)
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (транскрипционный фактор ядерный фактор каппа В)
NO	оксид азота
OR	odds ratio (отношение шансов)
PC20	мера бронхиальной гиперреактивности (предельная концентрация метахолина, вызывающая падение ОФВ1 на 20%)
RANTES	regulated on activation normal T cell expressed and secreted
RIN	RNA integrity number (показатель чистоты РНК)
STAT4	Signal Transducer and Activator of Transcription protein (транскрипционный фактор STAT4)
T-bet	транскрипционный фактор T-bet
TGF-β	transforming growth factor-β (трансформирующий ростовой фактор бета)
Th	Т хелпер
TIMP	тканевые ингибиторы металлопротеиназ
TLR	Toll-like рецепторы
VEGF	vascular endothelial growth factor (сосудистый эндотелиальный фактор роста)
β2-AR	бета2-адренорецептор

Список литературы

1. Аудит знаний основных положений GINA (Global Initiative of Asthma – Глобальная стратегия по астме) у врачей Томской области / Л.В. Абашина, О.С. Кобякова, И.А. Деев и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 4–2. – С. 96–103.
2. Базисная терапия тяжелой бронхиальной астмы у взрослых. Данные национального исследования НАБАТ / А.Г. Чучалин, Л.М. Огородова, Ф.И. Петровский и др. // Пульмонология. – 2004. – № 6. – С. 68–79.
3. Баранов, В.С. Генетические основы предрасположенности к некоторым частым мультифакториальным заболеваниям / В.С. Баранов // Медицинская генетика. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 102–112.
4. Белевский, А.С. Оценка уровня контроля бронхиальной астмы с помощью АСТ-теста / А.С. Белевский, Н.П. Княжеская, Ю.К. Новиков // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2007. – № 1. – С. 43–47.
5. Биличенко, Т.Н. Эпидемиология бронхиальной астмы / Т.Н. Биличенко // Бронхиальная астма : в 2-х т. / под ред. А.Г. Чучалина. – М. : Агар, 1997. – Т. 1, Гл. 14. – С. 400–423.
6. Бронхиальная астма в России: результаты национального исследования качества медицинской помощи больным бронхиальной астмой / А.Н. Цой, А.Г. Чучалин, В.В. Архипов и др. // Пульмонология. – 2006. – № 6. – С. 94–102.
7. Васьковский, Н.В. Механизмы нарушения контроля бронхиальной астмы при применении β 2-агонистов / Н.В. Васьковский, Е.С. Куликов // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 1. – С. 67–72.
8. Вклад токсических метаболитов NO в формирование эозинофильного воспаления при бронхиальной астме / О.В. Козина, Л.М. Огородова, Е.А. Геренг и др. // Пульмонология. – 2009. – № 4. – С. 69–73.
9. Геренг, Е.А. Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки бронхов у больных различными формами тяжелой бронхиальной астмой /

- Е.А. Геренг, П.А. Селиванова // Сибирский консилиум. – 2007. – Т. 62, № 7. – С. 30–31.
10. Гинтер, Е.К. Эволюция представлений о генетической природе мультифакториальных заболеваний / Е.К. Гинтер // Медицинская генетика. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 146–156.
 11. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2011 г.) / под ред. А.С. Белевского. – М. : Российское респираторное общество, 2012. – 108 с.
 12. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2006 г.) / под ред. А.Г. Чучалина. – М. : Атмосфера, 2007. – 104 с.
 13. ГОСТ Р 52379–2005. Надлежащая клиническая практика. – Введ. 2006–01–04. – М. : Изд-во стандартов, 2006. – 39 с.
 14. Динамика антиапоптотических факторов эозинофилов периферической крови у больных тяжелой бронхиальной астмой на фоне различных фармакотерапевтических режимов / Л.М. Огородова, И.А. Деев, Л.Ю. Никитина и др. // Российский аллергологический журнал. – 2005. – № 6. – С. 22–31.
 15. Динамика функциональных показателей при применении различных схем лечения бронхиальной астмы: данные многоцентрового исследования СТРЕЛА-АСТ / Л.М. Огородова, Е.С. Куликов, И.А. Деев и др. // Клиническая медицина. – 2011. – № 4. – С. 36–41.
 16. Ленская, Л.Г. Фармакоэкономика бронхиальной астмы / Л.Г. Ленская, Л.М. Огородова // Общественное здоровье и организация медицинской помощи на рубеже веков : сборник научных трудов / Сибирский медицинский университет. – Томск, 2000. – С. 77–83.
 17. Мониторинг и лечение тяжелой бронхиальной астмы у взрослых: результаты национального многоцентрового исследования НАБАТ / А.П. Ребров, А.Г. Чучалин, М.М. Илькович и др. // Терапевтический архив. – 2005. – N 3. – С. 36–42.

18. Мордашова, О.Н. Роль катехоламинов и биогенных аминов в развитии бронхиальной астмы / О.Н. Мордашова, Я.С. Лукьянова // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – № 1 – С. 71–72.
19. Наследуемость уровня общего интерлейкина-5 и полиморфизм С-703Т гена IL5 у больных бронхиальной астмой / Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, О.С. Кобякова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.– 2000. – № 1, прил. – С. 50–52.
20. Невзорова, В.А. Апоптоз и воспаление при бронхиальной астме / В.А. Невзорова, Т.Н. Суворенко, Е.Н. Коновалова // Терапевтический архив. – 2001. – № 12. – С. 92–96.
21. Огородова, Л.М. Ожирение и бронхиальная астма: новый взгляд / Л.М. Огородова, Е.С. Куликов, Е.Л. Тимошина // Терапевтический архив. – 2007. – № 10. – С. 32–35.
22. Особенности экспрессии генов NOS в слизистой бронхов при бронхиальной астме / О.В. Козина, Л.М. Огородова, П.А. Селиванова и др. // Пульмонология. – 2009. – № 6. – С. 78–82.
23. Патоморфологическая характеристика нестабильной бронхиальной астмы (фенотип brittle) / Л.М. Огородова, П.А. Селиванова, Е.А. Геренг и др. // Терапевтический архив. – 2008. – № 3. – С. 39–43.
24. Полиморфизм генов интерлейкинов и их рецепторов: популяционная распространенность и связь с атопической бронхиальной астмой / М.Б. Фрейдин, В.П. Пузырев, Л.М. Огородова и др. // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 12. – С. 1710–1718.
25. Распространенность бронхиальной астмы и аллергического ринита среди взрослого населения Санкт-Петербурга / Г.Б. Федосеев, А.В. Емельянов, Г.Р. Сергеева и др. // Терапевтический архив. – 2003. – № 1. – С. 21–27.
26. Распространенность и клиничко-аллергическая характеристика бронхиальной астмы в Восточной Сибири / А.Г. Чучалин, Б.А. Черняк, С.Н. Буйнова и др. // Пульмонология. – 1999. – Т. 9, № 1. – С. 42–49.
27. Роль интерлейкина-5 в патогенезе бронхиальной астмы / Л.М. Огородова,

- О.С. Кобякова, М.Б. Фрейдин и др. // Аллергология. – 1999. – № 4. – С. 32–36.
28. Сравнительная эффективность стратегий достижения контроля в условиях реальной клинической практики: данные многоцентрового исследования СТРЕЛА / Л.М. Огородова, А.С. Белевский, Е.С. Куликов и др. // Пульмонология. – 2009. – № 6. – С. 69–77.
29. Сравнительный анализ факторов кооперативности больных бронхиальной астмой / Н.С. Бушуева, Н.Ю. Сенкевич, А.С. Белевский и др. // Пульмонология. – 2000. – № 3. – С. 53–62.
30. Терапевтическая резистентность у больных тяжелой бронхиальной астмой / М.А. Симакова, Ж.А. Миронова, В.И. Трофимов и др. // Пульмонология. – 2010. – № 2. – С. 108–113.
31. Фрейдин, М.Б. Вклад полиморфизма генов интерлейкинов в изменчивость количественных факторов риска атопической бронхиальной астмы / М.Б. Фрейдин, Л.М. Огородова, В.П. Пузырев // Медицинская генетика. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 130–135.
32. Чучалин, А.Г. Социально-экономическая значимость заболеваемости бронхиальной астмой и ее стоимостное определение / А.Г. Чучалин, Е.С. Пыжева, Н.А. Колганова // Экономика здравоохранения. – 1997. – № 4–5. – С. 29–37.
33. Экспрессия интерлейкина-5 в мокроте больных бронхиальной астмой / А.Э. Сазонов, Ф.И. Петровский, И.И. Иванчук и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 135, № 4. – С. 437–440.
34. Эффективность стратегий достижения и поддержания контроля над бронхиальной астмой в условиях реальной клинической практики: данные многоцентрового исследования СТРЕЛА-АСТ / Е.С. Куликов, Л.М. Огородова, А.С. Белевский и др. // Пульмонология. – 2010. – № 1. – С. 80–86.
35. A critical role for eosinophils in allergic airways remodeling / A.A. Humbles,

- C.M. Lloyd, S.J. McMillan et al. // *Science*. – 2004. – Vol. 305, N 5691. – P. 1776–1779.
36. A genomewide association study of global gene expression / A.L. Dixon, L. Liang, M.F. Moffatt et al. // *Nat. Genet.* – 2007. – Vol. 39, N 10. – P. 1202–1207.
37. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma / M.F. Moffatt, I.G. Gut, F. Demenais et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363, N 13. – P. 1211–1221.
38. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment / S.J. Szabo, S.T. Kim, G.L. Costa et al. // *Cell*. – 2000. – Vol. 100. – P. 655–669.
39. Absence of leukotriene B4 receptor 1 confers resistance to airway hyperresponsiveness and Th2-type immune responses / K. Terawaki, T. Yokomizo, T. Nagase et al. // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, N 7. – P. 4217–4225.
40. Activation and localization of transcription factor, nuclear factor-kappaB, in asthma / L.A. Hart, V.L. Krishnan, I.M. Adcock et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 158. – P. 1585–1592.
41. Activation of the interleukin-5 promoter by cAMP in murine EL-4 cells requires the GATA-3 and CLE0 elements / M.D. Siegel, D.H. Zhang, P. Ray, A. Ray // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270, N 41. – P. 24548–2455.
42. Adcock, I.M. Corticosteroid-insensitive asthma: molecular mechanisms / I.M. Adcock, S.J. Lane // *J. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 178, N 3. – P. 347–355.
43. Adrenal adrenaline- and noradrenaline-containing cells and celiac sympathetic ganglia are differentially controlled by centrally administered corticotropin-releasing factor and arginine-vasopressin in rats / N. Yamaguchi-Shima, S. Okada, T. Shimizu et al. // *Eur. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 564, N 1–3. – P. 94–102.
44. Afams, R.J. Inadequate use of asthma medication in the United States: Results of the Asthma in America national population survey / R.J. Afams, A. Fuhbrigga, T. Guilbert // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2002. – Vol. 110. – P. 58–

- 64.
45. Agache, I.O. From phenotypes to endotypes to asthma treatment / I.O. Agache // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 13, N 3. – P. 249–256. /378
46. Airway neutrophils apoptosis in children with severe asthma / J. Liao, G.M. Nong, M. Jiang et al. // *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* – 2009. – Vol. 47, N 8. – P. 628–631.
47. Airway peroxidases catalyze nitration of the beta2-agonist salbutamol and decrease its pharmacological activity / K.J. Reszka, L. Sallans, S. Macha et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2011. – Vol. 336, N 2. – P. 440–449.
48. Ait-Khaled, N. Chronic respiratory diseases in developing countries: the burden and strategies for prevention and management / N. Ait-Khaled, D. Enarson, J. Bousquet // *Bull. World Health Organ.* – 2001. – Vol. 79. – P. 971–979.
49. Allele variants of C3435T multidrug resistance gene (MDR1), R130Q interleukin 13 (IL13) gene, -590C>T interleukin 4 (IL4) gene – markers of steroid dependent bronchial asthma (BA) risk / Z.A. Mironova, V.I. Trofimov, M.A. Simakova et al. // *Europ. Respir. J.* – 2010. – Vol. 36. –P. 291–292.
50. Allele-specific targeting of microRNAs to HLA-G and risk of asthma / Z. Tan, G. Randall, J. Fan et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 2007. – Vol. 81, N 4. – P. 829–834.
51. Allelic association and functional studies of promoter polymorphism in the leukotriene C4 synthase gene (LTC4S) in asthma / I. Sayers, S. Barton, S. Rorke et al. // *Thorax.* – 2003. – Vol. 58. – P. 417–424.
52. Allen, C.J. Gastroesophageal reflux and chronic respiratory disease / C.J. Allen // *Textbook of Pulmonary Disease* / ed. G.L. Baum, E. Wolinski. – Boston : Little, Brown, 1999. – Vol. 2. – 1471 p.
53. Alternative mRNA splicing creates transcripts encoding soluble proteins from most LILR genes / D.C. Jones, A. Roghanian, D.P. Brown et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2009. – Vol. 39, N 11. – P. 3195–3206.
54. Amino-terminal polymorphism of the human β 2-adrenergic receptor impart

- distinct agonist-promoted regulatory properties / S.A. Green, J. Turki, M. Innis et al. // *Biochemistry*. – 1994. – Vol. 33. – P. 9414–9419.
55. An immunoglobulin-like receptor, Allergin-1, inhibits immunoglobulin E-mediated immediate hypersensitivity reactions / K. Hitomi, S. Tahara-Hanaoka, S. Someya et al. // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 11, N 7. – P. 601–607.
56. Andrews, A.L. IL-13 receptor alpha 2: a regulator of IL-13 and IL-4 signal transduction in primary human fibroblasts / A.L. Andrews, T. Nasir, F. Bucchieri // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 118, N 4. – P. 858–865.
57. Arsenic trioxide, a potent inhibitor of NF-kappaB, abrogates allergen-induced airway hyperresponsiveness and inflammation [Electronic resource] / L.F. Zhou, Y. Zhu, X.F. Cui et al. // *Respir. Res.* – 2006. – Vol. 7. – URL: <http://respiratory-research.com/content/pdf/1465-9921-7-146.pdf>.
58. Association analysis of common variants of STAT6, GATA3, and STAT4 to asthma and high serum IgE phenotypes / M. Pykäläinen, R. Kinos, S. Valkonen et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 115, N 1. – P. 80–87.
59. Association between an interleukin-13 promoter polymorphism and atopy / T. Hummelshoj, U. Bodtger, P. Datta et al. // *Eur. J. Immunogenet.* – 2003. – Vol. 30, N 5. – P. 355–359.
60. Association between HLA-DQA1, -DQB1 gene polymorphisms and susceptibility to asthma in northern Chinese subjects / J. Gao, Y. Lin, C. Qiu et al. // *Chin. Med. J. (Engl.)*. – 2003. – Vol. 116, N 7. – P. 1078–1082.
61. Association between β 2-adrenoceptor polymorphism and susceptibility to bronchodilator desensitization in moderately severe stable asthmatics / K.S. Tan, I.P. Hall, J. Dewar et al. // *Lancet*. – 1997. – Vol. 350. – P. 995–999.
62. Association of C3435T polymorphism of MDR1 gene and T1808A polymorphism of NR3C1 gene with bronchial obstruction in severe asthmatics and COPD patients / M.A. Simakova, Z.A. Mironova, V.I. Trofimov et al. // *Europ. Respir. J.* – 2010. – Vol. 36. – P. 779.
63. Association of excess weight and degree of airway responsiveness in asthmatics and non-asthmatics / A. Sood, S.J. Verhulst, A. Varma et al. // *J. Asthma*. –

2006. – Vol. 43, N 6. – P. 447–452.
64. Association of HLA class II alleles with childhood asthma and Total IgE levels / M. Movahedi, M. Moin, M. Gharagozlou et al. // *Iran. J. Allergy Asthma Immunol.* – 2008. – Vol. 7, N 4. – P. 215–220.
65. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness / P. van Eerdewegh, R.D. Little, J. Dupuis et al. // *Nature.* – 2002. – Vol. 418, N 6896. – P. 426–430.
66. Association of thromboxane A2 receptor (TBXA2R) with atopy and asthma / H.D. Shin, B.L. Park, J.H. Jung et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 112, N 2. – P. 454–457.
67. Associations of MAOA-VNTR or 5HTT-LPR alleles with attention-deficit hyperactivity disorder symptoms are moderated by platelet monoamine oxidase B activity / H.L. Wargelius, K. Malmberg, J.O. Larsson, L. Oreland // *Psychiatr. Genet.* – 2012. – Vol. 22, N 1. – P. 42–45.
68. Asthma and wheezing are associated with depression and anxiety in adults: an analysis from 54 countries [Electronic resource] / K.O. Wong, B. Hunter Rowe, J. Douwes, A. Senthilselvan // *Pulm. Med.* – 2013. – Vol. 2013. – URL : <http://www.hindawi.com/journals/pm/2013/929028/>.
69. Asthma control in Latin America: the Asthma Insights and Reality in Latin America (AIRLA) survey / H. Neffen, C. Fritscher, F.C. Schacht et al. // *Rev. Panam. Salud. Publica.* – 2005. – Vol. 17, N 3. – P. 191–197.
70. Asthma control in the Asia-Pacific region: The Asthma Insights and Reality in Asia-Pacific Study / C.K.W. Lai, T.S. de Guia, Y.Y. Kim et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111. – P. 263–268.
71. Asthma guidelines: an assessment of physician understanding and practice / K.C. Doerschug, M.W. Peterson, C.S. Dayton et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 159, N 6. – P. 1735–1741.
72. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling / J. Bousquet, P.K. Jeffery, W.W. Busse et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 161. – P. 1720–1745.

73. Asthmatic airway neutrophilia after allergen challenge is associated with the glutathione S-transferase M1 genotype / A. Hoskins, S. Reiss, P. Wu et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 187, N 1. – P. 34–41.
74. Asthmatic changes in mice lacking T-bet are mediated by IL-13 / S. Finotto, M. Hausding, A. Doganci et al. // *Int. Immunol.* – 2005. – Vol. 17, N 8. – P. 993–1007.
75. Asymptomatic airway hyperresponsiveness: relationships with airway inflammation and remodeling / C. Laprise, M. Laviolette, M. Boutet et al. // *Eur. Respir. J.* – 1999. – Vol. 14. – P. 514–521.
76. Ayres, J.G. Brittle asthma / J.G. Ayres, J.F. Miles, P.J. Barnes // *Thorax.* – 1998. – Vol. 53. – P. 315–321.
77. Barnes, P.J. Corticosteroid effects on cell signaling / P.J. Barnes // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 27, N 2. – P. 413–426.
78. Barnes, P.J. Increased pulmonary α adrenergic and decreased β adrenergic receptors in experimental asthma / P.J. Barnes, C. Dollery, J. MacDermot // *Nature.* – 1980. – Vol. 285. – P. 569–571.
79. Barnes, P.J. Inflammatory mediators of asthma: an update / P.J. Barnes, K.F. Chung, C.P. Page // *Pharmacol. Rev.* – 1998. – Vol. 50. – P. 515–596.
80. Barnes, P.J. New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma / P.J. Barnes // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1999. – Vol. 83. – P. 1013–1026.
81. Basu, S. Toll-like receptors: function and roles in lung disease / S. Basu, M.J. Fenton // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2004. – Vol. 286, N 5. – P. L887–L892.
82. Bateman, E.D. Measuring asthma control / E.D. Bateman // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2001. – Vol. 1, N 3. – P. 211–216.
83. Bel, E.H. Clinical phenotypes of asthma / E.H. Bel // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2004. – Vol. 10. – P. 44–50.
84. Benjamini, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing / Y. Benjamini, Y. Hochberg // *J. R. Stat. Soc. B.* –

1995. – Vol. 57. – P. 289–300.
85. Bergquist, P. Clinical management of asthma in 1999: the Asthma Insights and Reality in Europe (AIRE) study [Electronic resource] / P. Bergquist, G.K. Crompton // *Eur. Respir. J.* – 2001. – Vol. 18. – URL: <http://erj.ersjournals.com/content/18/1/248.long>.
86. Beta-adrenergic receptor polymorphisms and response to salmeterol / M.E. Wechsler, E. Lehman, S.C. Lazarus et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 173, N 5. – P. 519–526.
87. Blockade of CCR4 in a humanized model of asthma reveals a critical role for DC-derived CCL17 and CCL22 in attracting Th2 cells and inducing airway inflammation / F. Perros, H.C. Hoogsteden, A.J. Coyle et al. // *Allergy.* – 2009. – Vol. 64, N 7. – P. 995–1002.
88. Bochner, B.S. Advances in mechanisms of allergy / B.S. Bochner, W.W. Busse // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 113, N 5. – P. 868–875.
89. Bonnans, C. Glucocorticoid receptor-binding characteristics in severe asthma / C. Bonnans, P. Chanez, H. Meziane // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 21. – P. 985–988.
90. Bouler, L.P. Near fatal asthma: clinical and physiologic features, perception of bronchoconstruction and psychologic profile / L.P. Bouler // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1997. – Vol. 88. – P. 838–846.
91. Bourdin, A. Specificity of basement membrane thickening in severe asthma / A. Bourdin, D. Neveu, I. Vachier // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119, N 6. – P. 1367–1374.
92. Bradding, P. Subclinical phenotypes of asthma / P. Bradding, R.H. Green // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. Vol. 10, N 1. – P. 54–59.
93. Bronchial asthma prevalence in children and youth with overweight / L. Ostrowska-Nawarycz, W. Wronski, J. Blaszczyk et al. // *Pol. Merkur. Lekarski.* – 2006. – Vol. 20, N 119. – P. 505–508.
94. CD4+ invariant T-cell-receptor+ natural killer T cells in bronchial asthma / O. Akbari, J.L. Faul, E.G. Hoyte et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 354, N

11. – P. 1117–1129.
95. Chemical mutational analysis of the human glucocorticoid receptor cDNA in glucocorticoid-resistant bronchial asthma / S.J. Lane, J.P. Arm, D.Z. Staynov, T.H. Lee // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 1994. – Vol. 11, N 1. – P. 42–48.
96. Chen, G. TGF-beta1 increases proliferation of airway smooth muscle cells by phosphorylation of map kinases [Electronic resource] / G. Chen, N. Khalil // *Respir. Res.* – 2006. – Vol. 7. – URL: <http://respiratory-research.com/content/7/1/2>.
97. Chen, Y. The association between obesity and asthma is stronger in nonallergic than allergic adults / Y. Chen, R. Dales, Y. Jiang // *Chest.* – 2006. – Vol. 130, N 3. – P. 890–895.
98. Child maltreatment moderates the association of MAOA with symptoms of depression and antisocial personality disorder / S.R. Beach, G.H. Brody, T.D. Gunter et al. // *J. Fam. Psychol.* – 2010. – Vol. 24, N 1. – P. 12–20.
99. Christman, J.W. The role of nuclear factor-kappa B in pulmonary diseases / J.W. Christman, R.T. Sadikot, T.S. Blackwell // *Chest.* – 2000. – Vol. 117, N 5. – P. 1482–1487.
100. Chung, K.F. Difficult/therapy-resistant asthma / K.F. Chung, P. Godard, E. Adelroth // *Eur. Respir. J.* – 1999. – Vol. 13. – P. 1198–1208.
101. Clinical and immunological determinants of severe/refractory asthma (SRA): association with Staphylococcal superantigen-specific IgE antibodies / M.L. Kowalski, M. Cieślak, C.A. Pérez-Novo et al. // *Allergy.* – 2011. – Vol. 66, N 1. – P. 32–38.
102. Comparison of the Asthma in America and Asthma Insight and Management surveys: did asthma burden and care improve in the United States between 1998 and 2009? / R.A. Nathan, E.O. Meltzer, M.S. Blaiss et al. // *Allergy Asthma Proc.* – 2012. – Vol. 33, N 1. – P. 65–76.
103. Complex promoter and coding region beta 2adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict in vivo responsiveness / C.M. Drysdale, D.W. McGraw, C.B. Stack et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol.

- 97, N 19. – P. 10483–10488.
104. Correlation between the ratio of T-bet/GATA-3 and the levels of IL-4 and IFN- γ in patients with allergic asthma / J. Yong, G.Q. Chen, B. Huang, S. Wu // *Mol. Med. Rep.* – 2011. – Vol. 4, N 4. – P. 663–666.
105. Correlation of systemic superoxide dismutase deficiency to airflow obstruction in asthma / S.A. Comhair, K.S. Ricci, M. Arroliga et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172, N 3. – P. 306–313.
106. Corren, J. Asthma phenotypes and endotypes: an evolving paradigm for classification / J. Corren // *Discov. Med.* – 2013. – Vol. 15, N 83. – P. 243–249.
107. Corrigan, C.J. Glucocorticoid resistance in chronic asthma / C.J. Corrigan, P.H. Brown, N.C. Barnes // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1991. – Vol. 144, N 5. – P. 1016–1025.
108. Corticosteroid pharmacogenetics: association of sequence variants in CRHR1 with improved lung function in asthmatics treated with inhaled corticosteroids / K.G. Tantisira, S. Lake, E.S. Silverman et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2004. – Vol. 13. – P. 1353–1359.
109. Creating the gene ontology resource: design and implementation / Gene Ontology Consortium // *Genome Res.* – 2001. – Vol. 11, N 8. – P. 1425–1433.
110. Cytokine production by peripheral blood CD4⁺ and CD8⁺ T cells in atopic childhood asthma [Electronic resource] / E. Machura, B. Mazur, M. Rusek-Zychma, M. Barć-Czarnecka // *Clin. Dev. Immunol.* – 2010. – Vol. 2010. – URL: <http://www.hindawi.com/journals/jir/2010/606139/>.
111. Cytokines and asthma / F. Gani, G. Senna, P. Piglia et al. // *Recenti Prog. Med.* – 1998. – Vol. 89, N 10. – P. 520–528.
112. Deficiency of endothelial heparan sulfates attenuates allergic airway inflammation / R.I. Zuberi, X.N. Ge, S. Jiang et al. // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 183, N 6. – P. 3971–3979.
113. Dente, F.L. Profiles of proinflammatory cytokines in sputum from different groups of severe asthmatic patients / F.L. Dente, S. Carnevali, M.L. Bartoli // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2006. – Vol. 97, N 3. – P. 312–320.

114. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet / S. Finotto, M.F. Neurath, J.N. Glickman et al. // *Science*. – 2002. – Vol. 295. – P. 336–338.
115. Devillier, P. Leukotrienes, leukotriene receptor antagonists and leukotriene synthesis inhibitors in asthma: an update. Part 1: synthesis, receptors and role of leukotrienes in asthma / P. Devillier, N. Baccard, C. Advenier // *Pharmacol. Res.* – 1999. – Vol. 40, N 1. – P. 3–13.
116. Differential expression of the β 2-adrenoreceptor and M3-cholinoreceptor genes in bronchial mucosa of patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease / P.A. Selivanova, E.S. Kulikov, O.V. Kozina et al. // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2012. – Vol. 108, N 1. – P. 39–43.
117. *Difficult asthma* / ed. S. Holgate. – Dunitz : Martin LTD, 1999. – 567 p.
118. Difficult/therapy-resistant asthma: the need for an integrated approach to define clinical phenotypes, evaluate risk factors, understand pathophysiology and find novel therapies. ERS Task Force on Difficult/Therapy-Resistant Asthma. European Respiratory Society / K.F. Chung, P. Godard, E. Adelroth et al. // *Eur. Respir. J.* – 1999. – Vol. 13. – P. 1198–1208.
119. Downregulation of sulfotransferase expression and activity in diseased human livers / E.B. Yalcin, V. More, K.L. Neira et al. // *Drug Metab. Dispos.* – 2013. – Vol. 41, N 9. – P. 1642–1650.
120. Dual role of sumoylation in the nuclear localization and transcriptional activation of NFAT1 / Y. Terui, N. Saad, S. Jia et al. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, N 27. – P. 28257–28265.
121. Duncan, C.J. Reduced eosinophil apoptosis in induced sputum correlates with asthma severity / C.J. Duncan, A. Lawrie, M.G. Blaylock // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22, N 3. – P. 484–490.
122. Durzo, A. The GOAL study / A. Durzo // *Can. Fam. Physician.* – 2006. – Vol. 52. – P. 187–189.
123. Economic burden of impairment in children with severe or difficult-to-treat asthma / S.J. Szefler, R.S. Zeiger, T. Haselkorn et al. // *Ann. Allergy Asthma*

- Immunol. – 2011. – Vol. 107, N 2. – P. 110–119.
124. Effect of nitrogen dioxide and ozone on the risk of dying in patients with severe asthma / J. Sunyer, X. Basagaña, J. Belmonte, J.M. Antó // *Thorax*. – 2002. – Vol. 57, N 8. – P. 687–693.
125. Eosinophils and eosinophil products in asthma / W. Saeed, A. Badar, M.M. Hussain, M. Aslam // *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad*. – 2002. – Vol. 14, N 4. – P. 49–55.
126. Eotaxin and obesity / A.R. Vasudevan, H. Wu, A.M. Xydakis et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 91, N 1. – P. 256–261.
127. Epidemiology and genetics of asthma / J.O. Warner, P. Pohunek, C. Marguet et al. // *J. Allergy Clin. Immun.* – 2000. – Vol. 105, N 2. – P. 166–171.
128. Epithelial cell proliferation contributes to airway remodeling in severe asthma / L. Cohen, E. Xueping, J. Tarsi et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2007. – Vol. 176, N 2. – P. 138–145.
129. Evans, W.E. Pharmacogenomics – drug disposition, drug targets, and side effects / W.E. Evans, H.L. McLeod // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348, N 6. – P. 538–549.
130. Evidence for a locus regulating total serum IgE levels mapping to chromosome 5 / D.A. Meyers, D.S. Postma, C.I. Panhuysen et al. // *Genomics*. – 1994. – Vol. 23, N 2. – P. 464–470.
131. Evidence for β 2-adrenergic receptor polymorphism at amino acid 16 as a risk factor for bronchial hyperresponsiveness / K.J. Holroyd, R. Levitt, C. Dragwa et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1995. – Vol. 151. – P. 673.
132. Examination of human tissue cytosols for expression of sulfotransferase isoform 1A2 (SULT1A2) using a SULT1A2-specific antibody / S. Nowell, B. Green, Y.M. Tang et al. // *Mol. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 67, N 2. – P. 394–399.
133. Exhaled nitric oxide as a predictor of exacerbation in children with moderate-to-severe asthma: a prospective, 5-month study / A.L. Cabral, W.M. Vollmer, R.M. Barbirotto, M.A. Martins // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2009. – Vol. 103, N 3. – P. 206–211.

134. Expression analysis of asthma candidate genes during human and murine lung development [Electronic resource] / E. Melén, A.T. Kho, S. Sharma et al. // *Respir. Res.* – 2011. – Vol. 12. – URL: <http://respiratory-research.com/content/12/1/86>.
135. Fal, A.M. Mechanisms regulating tissue eosinophilia in bronchial asthma: focus on apoptosis / A.M. Fal, A.A. Nowak, M.T. Nowak // *Pneumonol. Alergol. Pol.* – 2003. – Vol. 71, N 5–6. – P. 281–287.
136. FCER2: a pharmacogenetic basis for severe exacerbations in children with asthma / K.G. Tantisira, E.S. Silverman, T.J. Mariani et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 120. – P. 1285–1291.
137. Fenech, A. Pharmacogenetics of asthma / A. Fenech, I.P. Hall // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 53. – P. 3–15.
138. Feng, J.T. Dysfunction of releasing adrenaline in asthma by nerve growth factor / J.T. Feng, C.P. Hu // *Med. Hypotheses.* – 2005. – Vol. 65, N 6. – P. 1043–1046.
139. Feng, Y.H. Specific regulator of eosinophil apoptosis: Siglec-8-new hope for bronchial asthma treatment / Y.H. Feng, H. Mao // *Chin. Med. J. (Engl.)*. – 2012. – Vol. 125, N 11. – P. 2048–2052.
140. Fluticasone induces T cell apoptosis in the bronchial wall of mild to moderate asthmatics / S. O'Sullivan, L. Cormican, C.M. Burke, L.W. Poulter // *Thorax.* – 2004. – Vol. 59, N 8. – P. 657–661.
141. FoxP3, GATA-3 and T-bet expression in elderly asthma / S. Vale-Pereira, A. Todo-Bom, L. Geraldés et al. // *Clin. Exp. Allergy.* – 2011. – Vol. 41, N 4. – P. 490–496.
142. Gagliardo, R. Glucocorticoid receptor alpha and beta in glucocorticoid dependent asthma / R. Gagliardo, P. Chanez, A.M. Vignola // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 162, N 1. – P. 7–13.
143. GATA-3 in human T cell helper type 2 development / A. Skapenko, J. Leipe, U. Niesner et al. // *J. Exp. Med.* – 2004. – Vol. 199, N 3. – P. 423–428.
144. GATA-3 is an important transcription factor for regulating human NKG2A gene

- expression / A.I. Marusina, D.K. Kim, L.D. Lieto et al. // *J. Immunol.* –2005. – Vol. 174, N 4. – P. 2152–2159.
145. GATA-3 promotes Th2 responses through three different mechanisms: induction of Th2 cytokine production, selective growth of Th2 cells and inhibition of Th1 cell-specific factors / J. Zhu, H. Yamane, J. Cote-Sierra et al. // *Cell Res.* – 2006. – Vol. 16, N 1. – P. 3–10.
146. GATA-3-dependent enhancer activity in IL-4 gene regulation / S. Ranganath, W. Ouyang, D. Bhattacharya et al. // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 161, N 8. – P. 3822–3826.
147. Gene expression of phenylethanolamine N-methyltransferase in corticotropin-releasing hormone knockout mice during stress exposure / R. Kvetnansky, L. Kubovcakova, A. Tillinger et al. // *Cell Mol. Neurobiol.* – 2006. – Vol. 26, N 4–6. – P. 735–754.
148. Gene expression of the GATA-3 transcription factor is increased in atopic asthma / Y. Nakamura, O. Ghaffar, R. Olivenstein et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1999. – Vol. 103. – P. 215–222.
149. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. / M. Ashburner, C.A. Ball, J.A. Blake et al. // *Nat. Genet.* – 2000. – Vol. 25, N 1. – P. 25–29.
150. Genetic polymorphisms of the β 2-adrenergic receptor in nocturnal and nonnocturnal asthma: evidence that Gly 16 correlates with the nocturnal phenotype / J. Turki, J. Pak, S. Green et al. // *J. Clin. Invest.* – 1995. – Vol. 95. – P. 1635–1641.
151. Genetic variants of IL-13 signalling and human asthma and atopy / A. Heinzmann, X.Q. Mao, M. Akaiwa et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2000. – Vol. 9, N 4. – P. 549–559.
152. Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children / J.Q. He, M. Chan-Yeung, A.B. Becker et al. // *Genes. Immun.* – 2003. – Vol. 4, N 5. – P. 385–389.
153. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of

- childhood asthma / M.F. Moffatt, M. Kabesch, L. Liang et al. // *Nature*. – 2007. – Vol. 448, N 7152. – P. 470–473.
154. Genomewide association between *GLCCI1* and response to glucocorticoid therapy in asthma / K.G. Tantisira, J. Lasky-Su, M. Harada et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 365, N 13. – P. 1173–1183.
155. Genotypes of TNF-alpha, VEGF, hOGG1, *GSTM1*, and *GSTT1*: useful determinants for clinical outcome of bladder cancer / E.J. Kim, P. Jeong, C. Quan et al. // *Urology*. – 2005. – Vol. 65, N 1. – P. 70–75.
156. Glucocorticoid receptor-binding characteristics in severe asthma / C. Bonnans, P. Chanez, H. Meziane et al. // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 21, N 6. – P. 985–988.
157. Glutathione S transferase deficiency and passive smoking increase childhood asthma / M. Kabesch, C. Hoefler, D. Carr et al. // *Thorax*. – 2004. – Vol. 59, N 7. – P. 569–573.
158. Graham, B. The two faces of NFkappaB in cell survival responses / B. Graham, S.B. Gibson // *Cell Cycle*. – 2005. – Vol. 4, N 10. – P. 1342–1345.
159. Graziano, F.M. Cytokines, chemokines, RANTES, and eotaxin / F.M. Graziano, E.B. Cook, J.L. Stahl // *Allergy Asthma Proc.* – 1999. – Vol. 20, N 3. – P. 141–146.
160. *GSTT1* and *GSTM1* null mutations and adverse reactions induced by antituberculosis drugs in Koreans / S.H. Kim, S.H. Kim, H.J. Yoon et al. // *Tuberculosis (Edinb)*. – 2010. – Vol. 90, N 1. – P. 39–43.
161. Guo, X. Signaling cross-talk between TGF-beta/BMP and other pathways / X. Guo, X.F. Wang // *Cell Res.* – 2009. – Vol. 19, N 1. – P. 71–88.
162. Hall, I.P. Genetics and pulmonary medicine 8: asthma / I.P. Hall // *Thorax*. – 1999. – Vol. 54, N 1. – P. 65–69.
163. Haworth, O. NK cells are effectors for resolvin E1 in the timely resolution of allergic airway inflammation / O. Haworth, M. Cernadas, B.D. Levy // *J. Immunol.* – 2011. – Vol. 186, N 11. – P. 6129–6135.
164. Health beliefs and compliance with inhaled corticosteroids by asthmatic patients

- in primary care practices / C. Chambers, L. Markson, J. Diamond et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 93. – P. 88–94.
165. Hemelaers, L. Eotaxin: an important chemokine in asthma / L. Hemelaers, R. Louis // *Rev. Med. Liege.* – 2006. – Vol. 61, N 4. – P. 223–226.
166. Hetzel, M.R. Brittle asthma: fiend or phantom? / M.R. Hetzel // *Thorax.* – 1998. – Vol. 53. – P. 235–236.
167. High constitutive glucocorticoid receptor beta in human neutrophils enables them to reduce their spontaneous rate of cell death in response to corticosteroids / I. Strickland, K. Kisich, P.J. Hauk et al. // *J. Exp. Med.* – 2001. – Vol. 193, N 5. – P. 585–593.
168. HLA-DQ strikes again: genome-wide association study further confirms HLA-DQ in the diagnosis of asthma among adults / J. Lasky-Su, B.E. Himes, B.A. Raby et al. // *Clin. Exp. Allergy.* – 2012. – Vol. 42, N 12. – P. 1724–1733.
169. Hodel, A. Effects of glucocorticoids on adrenal chromaffin cells / A. Hodel // *J. Neuroendocrinol.* – 2001. – Vol. 13, N 2. – P. 216–220.
170. Holgate, S.T. Asthma genetics: waiting to exhale / S.T. Holgate // *Nat. Genet.* – 1997. – Vol. 15, N 3. – P. 227–229.
171. Human adrenocorticotropin-secreting pituitary adenomas show frequent loss of heterozygosity at the glucocorticoid receptor gene locus / N.A. Huizenga, P. de Lange, J.W. Koper et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1998. – Vol. 83, N 3. – P. 917–921.
172. Identification and association of polymorphisms in the interleukin 13 gene with asthma and atopy in a Dutch population / T.D. Howard, P.A. Whittaker, A.L. Zaiman et al. // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2001. – Vol. 25, N 3. – P. 377–384.
173. Identification of a conserved GATA3 response element upstream proximal from the interleukin-13 gene locus / M. Yamashita, M. Ukai-Tadenuma, M. Kimura et al. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, N 44. – P. 42399–42408.
174. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program / W.C. Moore, D.A. Meyers, S.E. Wenzel et al. // *Am. J.*

- Respir. Crit. Care Med. – 2010. – Vol. 181. – P. 315–323.
175. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza / A.R. Everitt, S. Clare, T. Pertel et al. // *Nature*. – 2012. – Vol. 484, N 7395. – P. 519–523.
176. IL-4-expressing bronchoalveolar T cells from asthmatic and healthy subjects preferentially express CCR 3 and CCR 4 / A.J. Morgan, F.A. Symon, M.A. Berry et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 116, N 3. – P. 594–600.
177. IL-4-induced GATA-3 expression is a time-restricted instruction switch for Th2 cell differentiation / N. Seki, M. Miyazaki, W. Suzuki et al. // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 172. – P. 6158–6166.
178. IL-5 and eosinophils in asthma and atopy: time for a new paradigm / J.C. Huang, M. Martinez-Moczygemba, A.P. Nguyen, D.P. Huston // *Therapeutic targets of airway inflammation* / ed. D.P. Huston, T. Eissa. – New York : Marcel-Dekker, 2003. – P. 495–518.
179. IL5 and IL5 receptor alpha polymorphisms are associated with atopic dermatitis in Koreans / J.H. Namkung, J.E. Lee, E. Kim et al. // *Allergy*. – 2007. – Vol. 62, N 8. – P. 934–942.
180. Ile50Val variants or IL4Ra upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma / H. Mitsuyasu, K. Izuhara, X.Q. Mao et al. // *Nat. Genet.* – 1998. – Vol. 19. – P. 119–120.
181. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections [Electronic resource] / B. Puthothu, M. Krueger, J. Heinze et al. // *Clin. Mol. Allergy*. – 2006. – Vol. 4. – URL: <http://www.clinicalmolecularallergy.com/content/4/1/2>.
182. Impact of psychosocial stress on airway inflammation and its mechanism in a murine model of allergic asthma / B. Li, X.H. Duan, J.F. Wu et al. // *Chin. Med. J. (Engl)*. – 2013. – Vol. 126, N 2. – P. 325–334.
183. Impaired GATA3-dependent chromatin remodeling and Th2 cell differentiation leading to attenuated allergic airway inflammation in aging mice / A. Hasegawa,

- T. Miki, H. Hosokawa et al. // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176. – P. 2546–2554.
184. Impaired innate interferon induction in severe therapy resistant atopic asthmatic children / M.R. Edwards, N. Regamey, M. Vareille et al. // *Mucosal Immunol.* – 2013. – Vol. 6, N 4. – P. 797–806.
185. Increased IL-17A secreting CD4+ T cells, serum IL-17 levels and exhaled nitric oxide are correlated with childhood asthma severity / J.W. Chien, C.Y. Lin, K.D. Yang et al. // *Clin. Exp. Allergy.* – 2013. – Vol. 43, N 9. – P. 1018–1026.
186. Increased susceptibility of mice lacking T-bet to infection with *Mycobacterium tuberculosis* correlates with increased IL-10 and decreased IFN-gamma production / B.M. Sullivan, O. Jobe, V. Lazarevic et al. // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, N 7. – P. 4593–4602.
187. Interferon-alpha as treatment option in severe persistent uncontrolled bronchial asthma: an open label study / C. Kroegel, N. Bergmann, C. Heider et al. // *Pneumologie.* – 2009. – Vol. 63, N 6. – P. 307–313.
188. Interferon-alpha inhibits airway eosinophilia and hyperresponsiveness in an animal asthma model [corrected] / Y. Kikkawa, K. Sugiyama, K. Obara et al. // *Asia Pac. Allergy.* – 2012. – Vol. 2, N 4. – P. 256–263.
189. Interferon-gamma as a possible target in chronic asthma / R.K. Kumar, D.C. Webb, C. Herbert, P.S. Foster // *Inflamm. Allergy Drug. Targets.* – 2006. – Vol. 5, N 4. – P. 253–256.
190. Interferon-gamma, pulmonary macrophages and airway responsiveness in asthma / R.K. Kumar, M. Yang, C. Herbert, P.S. Foster // *Inflamm. Allergy Drug. Targets.* – 2012. – Vol. 11, N 4. – P. 292–297.
191. Interleukin 10 and transforming growth factor-beta promoter polymorphisms in allergies and asthma / K. Hobbs, J. Negri, M. Klinnert et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 158, N 6. – P. 1958–1962.
192. Interleukin-13 gene expression is regulated by GATA-3 in T cells: role of a critical association of a GATA and two GATG motifs / C. Lavenu-Bombled, C.D. Trainor, I. Makeh et al. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, N 21. – P. 18313–18321.

193. Interleukin-13 gene polymorphism G4257A is associated with atopic dermatitis in Japanese patients / Y. Tsunemi, H. Saeki, K. Nakamura et al. // *J. Dermatol. Sci.* – 2002. – Vol. 30, N 2. – P. 100–107.
194. Interleukin-18 in pulmonary inflammatory diseases / T. Kawayama, M. Okamoto, H. Imaoka et al. // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2012. – Vol. 32, N 10. – P. 443–449.
195. Involvement of GATA-3-dependent Th2 lymphocyte activation in airway hyperresponsiveness / N. Yamashita, H. Tashimo, H. Ishida et al. // *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* – 2006. – Vol. 290, N 6. – P. L1045–L1051.
196. IRAKM is involved in the pathogenesis of early-onset persistent asthma / L. Balaci, M.C. Spada, N. Olla et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 2007. – Vol. 80, N 6. – P. 1103–1114.
197. Jacoby, D.B. Eosinophil recruitment to the airway nerves / D.B. Jacoby, R.M. Costello, A.D. Fryer // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2001 – Vol. 107, N 2. – P. 200–210.
198. Jakschik, B.A. Characterization of leukotriene A4 and B4 biosynthesis / B.A. Jakschik, C.G. Kuo // *Prostaglandins.* – 1983. – Vol. 25, N 6. – P. 767–782.
199. Jiang, Y. Evidence of LAT as a dual substrate for Lck and Syk in T lymphocytes / Y. Jiang, H. Cheng // *Leuk. Res.* – 2007. – Vol. 31, N 4. – P. 541–545.
200. Kanehisa, M. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes / M. Kanehisa, S. Goto // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – Vol. 28, N 1. – P. 27–30.
201. Karimi, K. Natural killer cells in asthma [Electronic resource] / K. Karimi, P. Forsythe // *Front. Immunol.* – 2013. – Vol. 4. – URL: <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fimmu.2013.00159/full>.
202. Kay, A.B. Asthma and inflammation / A.B. Kay // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1998. – Vol. 87. – P. 893–910.
203. Kikuchi, S. Association between neutrophilic and eosinophilic inflammation in patients with severe persistent asthma / S. Kikuchi, M. Nagata, I. Kikuchi // *Int.*

- Arch. Allergy Immunol. – 2005. – Vol. 137, suppl. 1. – P. 7–11.
204. Killer cell immunoglobulin-like receptor polymorphisms in HLA-identical kidney transplant recipients: lack of 2DL2 and 2DS2 may be associated with poor graft function / R.E. Cirocco, J.M. Mathew, G.W. Burke et al. // *Tissue Antigens*. – 2007. – Vol. 69, suppl 1. – P. 123-124.
205. Kim, P.J. GATA-3 regulates the development and function of invariant NKT cells / P.J. Kim, S.Y. Pai, M. Brigl // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, N 10. – P. 6650–6659.
206. Kino, T. Glucocorticoid and mineralocorticoid resistance/hypersensitivity syndromes / T. Kino, G.P. Chrousos // *J. Endocrinol.* – 2001. – Vol. 169, N 3. – P. 437–445.
207. Korshunov, V.A. Smooth muscle apoptosis and vascular remodeling / V.A. Korshunov, B.C. Berk // *Curr. Opin. Hematol.* – 2008. – Vol. 15, N 3. – P. 250–254.
208. Kumar, L. Mfuzz: A software package for soft clustering of microarray data / L. Kumar, M.E. Futschik // *Bioinformatics*. – 2007. – Vol. 2, N 1. – P. 5–7.
209. Kuperman, D.A. Direct effects of interleukin-13 on epithelial cells cause airway hyperreactivity and mucus overproduction in asthma / D.A. Kuperman, X. Huang, L.L. Koth // *Nat. Med.* – 2002. – Vol. 8, N 8. – P. 885–889.
210. Lamb, J.P. Reduced apoptosis of memory T-cells in the inner airway wall of mild and severe asthma / J.P. Lamb, A. James, N. Carroll // *Eur. Respir. J.* – 2005. – Vol. 26, N 2. – P. 265–270.
211. Lane, S.J. Corticosteroid resistance in other disease states and tissues / S.J. Lane, T.H. Lee // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1996. – Vol. 154. – P. S62–S65.
212. Large-scale candidate gene analysis of spontaneous clearance of hepatitis C virus / T.L. Mosbrugger, P. Duggal, J.J. Goedert et al. // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, N 9. – P. 1371–1380.
213. Levine, S.J. Narrative review: the role of Th2 immune pathway modulation in the treatment of severe asthma and its phenotypes / S.J. Levine, S.E. Wenzel //

- Ann. Intern. Med. – 2010. – Vol. 152, N 4. – P. 232–237.
214. Liew, F.Y. Toll-like receptor 2 signalling and inflammation / F.Y. Liew, M. Patel, D. Xu // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – Vol. 64, suppl 4. – P. iv104–iv105.
215. Liggett, S.B. Pharmacogenetics of β_1 and β_2 adrenergic receptors / S.B. Liggett // Pharmacol. – 2002. – Vol. 137. – P. 1213–1216.
216. Lindholm, C.K. IL-2 receptor signaling through the Shb adapter protein in T and NK cells / C.K. Lindholm // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2002. – Vol. 296, N 4. – P. 929–936.
217. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations / D.G. Marsh, J.D. Neely, D.R. Breazeale et al. // Science. – 1994. – Vol. 264, N 5162. – P. 1152–1156.
218. Links between panic disorder, depression, defence mechanisms, coherence and family functioning in patients suffering from severe asthma / A. Potoczek, E. Nizankowska-Mogilnicka, G. Bochenek, A. Szczeklik // Psychiatr Pol. – 2006. – Vol. 40, N 6. – P. 1097–1116.
219. Local genetic and environmental factors in asthma disease pathogenesis: chronicity and persistence mechanisms / S.T. Holgate, D.E. Davies, R.M. Powell et al. // Eur. Respir. J. – 2007. – Vol. 29, N 4. – P. 793–803.
220. Low doses of exogenous interferon- γ attenuated airway inflammation through enhancing Fas/FasL-induced CD4⁺ T cell apoptosis in a mouse asthma model / Y. Yao, S. Lu, H. Li et al. // J. Interferon Cytokine Res. – 2012. – Vol. 32, N 11. – P. 534–541.
221. Mann, B.S. Blood neutrophil activation markers in severe asthma: lack of inhibition by prednisolone therapy [Electronic resource] / B.S. Mann, K.F. Chung // Respir. Res. – 2006. – Vol. 7. – URL: <http://respiratory-research.com/content/7/1/59>.
222. Mattos, W. Matrix metalloproteinase-9 expression in asthma: effect of asthma severity, allergen challenge, and inhaled corticosteroids / W. Mattos, S. Lim, R. Russell // Chest. – 2002. – Vol. 122, N 5. – P. 1543–1552.

223. Mechanisms of glucocorticoid-resistant asthma / D.Y. Leung, M. de Castro, S.J. Szefler, G.P. Chrousos // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1998. – Vol. 840. – P. 735–746.
224. Metabolism of salbutamol differs between asthmatic patients and healthy volunteers / K. Naidu Sjöswärd, M. Josefsson, J. Ahlner et al. // *Pharmacol. Toxicol.* – 2003. – Vol. 92, N 1. – P. 27–32.
225. Metzger, N.L. Confirmed beta16Arg/Arg polymorphism in a patient with uncontrolled asthma / N.L. Metzger, D.R. Kockler, L.A. Gravatt // *Ann. Pharmacother.* – 2008. – Vol. 42, N 6. – P. 874–881.
226. MHC class II, tumour necrosis factor alpha, and lymphotoxin alpha gene haplotype associations with serological subsets of systemic lupus erythematosus / N.J. McHugh, P. Owen, B. Cox et al. // *Ann. Rheum. Dis.* – 2006. – Vol. 65, N 4. – P. 488–494.
227. Molecular properties and pharmacogenetics of a polymorphism of adenylyl cyclase type 9 in asthma: interaction between beta-agonist and corticosteroid pathways / K.G. Tantisira, K.M. Small, A.A. Litonjua et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2005. – Vol. 14, N 12. – P. 1671–1677.
228. Morjaria, J.B. Stratified medicine in selecting biologics for the treatment of severe asthma / J.B. Morjaria, M. Proiti, R. Polosa // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 11, N 1. – P. 58–63.
229. Morphological and molecular characteristics of "difficult" asthma / P.A. Selivanova, E.S. Kulikov, O.V. Kozina et al. // *J. Asthma.* – 2010. – Vol. 47, N 3. – P. 269–275.
230. Mukhopadhyay, S. Role of TNF α in pulmonary pathophysiology / S. Mukhopadhyay, J.R. Hoidal, T.K. Mukherjee // *Respir. Res.* – 2006. – Vol. 7, N 1. – P. 125.
231. Multiple chemokine receptors, including CCR6 and CXCR3, regulate antigen-induced T cell homing to the human asthmatic airway / S.Y. Thomas, A. Banerji, B.D. Medoff et al. // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179, N 3. – P. 1901–1912.

232. Muñoz Soto, R.B. Genetic polymorphisms and xenobiotic exposure in infantile asthma / R.B. Muñoz Soto, A. Albores Medina // *Gac. Med. Mex.* – 2011. – Vol. 147, N 1. – P. 38–47.
233. Murray, C.J.L. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study / C.J.L. Murray, A.D. Lopez // *Lancet.* – 1997. – Vol. 349. – P. 1436–1442.
234. Murray, C.J.L. Regional patterns of disability-free life expectancy and disability-adjusted life expectancy: Global Burden of Disease Study / C.J.L. Murray, A.D. Lopez // *Lancet.* – 1997. – Vol. 349. – P. 1347–1352.
235. Mycoplasma pneumoniae and asthma in children / S. Biscardi, M. Lorrot, E. Marc et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 38, N 10. – P. 1341–1346.
236. Nakagome, K. Neutrophilic inflammation in severe asthma / K. Nakagome, S. Matsushita, M. Nagata // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2012. – Vol. 158, suppl. 1. – P. 96–102.
237. Neutrophil-derived matrix metalloproteinase-9 is increased in severe asthma and poorly inhibited by glucocorticoids / M. Cundall, Y. Sun, C. Miranda et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 112, N 6. – P. 1064–1071.
238. Neutrophilic inflammation-indicative of asthma severity / A. Grigoraş, C.C. Grigoraş, T. Mihaescus et al. // *Pneumologia.* – 2010. – Vol. 59, N 1. – P. 13–18.
239. NF-kappa B activation in airways modulates allergic inflammation but not hyperresponsiveness / M.E. Poynter, R. Cloots, T. van Woerkom et al. // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173, N 11. – P. 7003–7009.
240. NFkappaB negatively regulates interferon-induced gene expression and anti-influenza activity / L. Wei, M.R. Sandbulte, P.G. Thomas et al. // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281, N 17. – P. 11678–11684.
241. NKT cells in the induced sputum of severe asthmatics [Electronic resource] / A. Hamzaoui, Cheik S. Rouhou, H. Graïri et al. // *Mediators Inflamm.* – 2006. – Vol. 2006. – URL: <http://www.hindawi.com/journals/mi/2006/071214/abs/>.
242. Obesity and its relationship with asthma prevalence and severity in adolescents

- from southern Brazil / V. Cassol, T.M. Rizzato, S.P. Teche et al. // *J. Asthma*. – 2006. – Vol. 43, N 1. – P. 57–60.
243. Obesity increases the risk of incident asthma among adults / E. Ronmark, C. Andersson, L. Nystrom et al. // *Eur. Respir. J.* – 2005. – Vol. 25, N 2. – P. 282–288.
244. Oyamada, H. RANTES production from mononuclear cells in response to the specific allergen in asthma patients / H. Oyamada, Y. Kamada, N. Saito // *Allergol Int.* – 2006. – Vol. 55, N 3. – P. 253–259.
245. PACAP and NGF regulate common and distinct traits of the sympathoadrenal lineage: effects on electrical properties, gene markers and transcription factors in differentiating PC12 cells / L. Grumolato, E. Louiset, D. Alexandre et al. // *Eur. J. Neurosci.* – 2003. – Vol. 17, N 1. – P. 71–82.
246. Papi, A. Rhinovirus infection induces expression of its own receptor intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) via increased NF-kappaB-mediated transcription / A. Papi, S.L. Johnston // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274, N 14. – P. 9707–9720.
247. Paplinska, M. Role of eotaxin in the pathophysiology of asthma / M. Paplinska, H. Grubek-Jaworska, R. Chazan // *Pneumonol. Alergol. Pol.* – 2007. – Vol. 75, N 2. – P. 180–185.
248. Parfrey, H. Live and let die: is neutrophil apoptosis defective in severe asthma? / H. Parfrey, N. Farahi, L. Porter // *Thorax*. – 2010. – Vol. 65, N 8. – P. 665–667.
249. PEBP1 downregulation is associated to poor prognosis in HCC related to hepatitis B infection / Y.F. Xu, Y. Yi, S.J. Qiu et al. // *J. Hepatol.* – 2010. – Vol. 53, N 5. – P. 872–879.
250. Pediatric severe asthma is characterized by eosinophilia and remodeling without T(H)2 cytokines / C.J. Bossley, L. Fleming, A. Gupta et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 129, N 4. – P. 974–982.
251. Pepe, C. Differences in airway remodeling between subjects with severe and moderate asthma / C. Pepe, S. Foley, J. Shannon // *J. Allergy Clin. Immunol.* –

2005. – Vol. 116, N 3. – P. 544–549.
252. Persistent activation of nuclear factor-kappaB signaling pathway in severe uncontrolled asthma / R. Gagliardo, P. Chanez, M. Mathieu et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 168, N 10. – P. 1190–1198.
253. Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment / J.M. Drazen, C.N. Yandava, L. Dubé et al. // *Nat. Genet.* – 1999. – Vol. 22, N 2. – P. 168–170.
254. Pharmacogenetic markers of steroid dependent bronchial asthma (BA) control / Z.A. Mironova, V.I. Trofimov, M.A. Simakova et al. // *Europ. Respir. J.* – 2010. – Vol. 36. – P. 1003.
255. Phenotypes and endotypes of uncontrolled severe asthma: new treatments / P. Campo, F. Rodríguez, S. Sánchez-García et al. // *J. Investig. Allergol Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 23, N 2. – P. 76–88.
256. Phenotypic characterization of ex vivo CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} immune regulatory T cells in allergic asthma: pathogenesis relevance of their FoxP3, GITR, CTLA-4 and FAS expressions / M. Pietruczuk, M. Eusebio, L. Kraszula et al. // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2012. – Vol. 26, N 4. – P. 627–639.
257. Polonikov, A.V. Genetic variation of genes for xenobiotic-metabolizing enzymes and risk of bronchial asthma: the importance of gene-gene and gene-environment interactions for disease susceptibility / A.V. Polonikov, V.P. Ivanov, M.A. Solodilova // *J. Hum. Genet.* – 2009. – Vol. 54, N 8. – P. 440–449.
258. Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTP1 locus. A new marker for bronchial hyperresponsiveness and asthma / A.A. Fryer, A. Bianco, M. Hepple et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 161, N 5. – P. 1437–1442.
259. Polymorphisms in eosinophil pathway genes, asthma and atopy / M. Kabesch, M. Depner, I. Dahmen et al. // *Allergy.* – 2007. – Vol. 62, N 4. – P. 423–428.
260. Polymorphisms in the interleukin-4 and interleukin-4 receptor alpha chain genes confer susceptibility to asthma and atopy in a Caucasian population / B. Beghé, S. Barton, S. Rorke et al. // *Clin. Exp. Allergy.* – 2003. – Vol. 33, N 8. – P.

- 1111–1117.
261. Polymorphisms in the prostaglandin E2 receptor subtype 2 gene confer susceptibility to aspirinintolerant asthma: a candidate gene approach / N. Jinnai, T. Sakagami, T. Sekigawa et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2004. – Vol. 13, N 24. – P. 3203–3217.
262. Positional cloning of a novel gene influencing asthma from chromosome 2q14 / M. Allen, A. Heinzmann, E. Noguchi et al. // *Nat. Genet.* – 2003. – Vol. 35. – P. 258–263.
263. Positional cloning of a quantitative trait locus on chromosome 13q14 that influences immunoglobulin E levels and asthma / Y. Zhang, N.I. Leaves, G.G. Anderson et al. // *Nat. Genet.* – 2003. – Vol. 34, N 2. – P. 181–186.
264. Positional identification of an asthma susceptibility gene on human chromosome 5q33 / E. Noguchi, Y. Yokouchi, J. Zhang et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172, N 2. – P. 183–188.
265. Possible anti-inflammatory effect of salmeterol against interleukin-8 and neutrophil activation in asthma in vivo / D.W. Reid, C. Ward, N. Wang et al. // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 21, N 6. – P. 994–999.
266. Predictors for identifying the efficacy of systemic steroids on sustained exhaled nitric oxide elevation in severe asthma / K. Matsunaga, T. Hirano, K. Akamatsu, Y. Minakata // *Allergol. Int.* – 2013. – Vol. 62, N 3. – P. 359–365.
267. Prevalence and severity of symptoms of asthma, rhinitis, and eczema in 13 to 14 year old children in Taipei, Taiwan / D.C. Yan, L.S. Ou, T.L. Tsai et al. // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2005. – Vol. 95, N 6. – P. 579–585.
268. Prevalence of asthma among adult females and males in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2001-2004 / M.K. McHugh, E. Symanski, L.A. Pompeii, G.L. Delclos // *J. Asthma.* – 2009. – Vol. 46, N 8. – P. 759–766.
269. Prevalence, incidence and persistence of anti-asthma medication use in 2- to 29-year-olds: a nationwide prescription study / O. Karlstad, P. Nafstad, A. Tverdal et al. // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 66. – P. 399–406.

270. Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions / American Thoracic Society // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 162, N 6. – P. 2341–2351.
271. Profiling of genes expressed in peripheral blood mononuclear cells predicts glucocorticoid sensitivity in asthma patients / H. Hakonarson, U.S. Bjornsdottir, E. Halapi et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – Vol. 102. – P. 14789–14794.
272. Proinflammatory cytokines regulate human glucocorticoid receptor gene expression and lead to the accumulation of the dominant negative beta isoform: a mechanism for the generation of glucocorticoid resistance / J.C. Webster, R.H. Oakley, C.M. Jewell, J.A. Cidlowski // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 98, N 12. – P. 6865–6870.
273. Quantitative assessment of the association between the GSTM1-null genotype and the risk of childhood asthma / F. Li, S. Li, H. Chang et al. // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* – 2013. – Vol. 17, N 9. – P. 656–661.
274. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor significantly decreases the expression of CXCR3 and CCR6 on T cells and preferentially induces T helper cells to a T helper 17 phenotype in peripheral blood harvests / L.X. Sun, H.Y. Ren, Y.J. Shi et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2009. – Vol. 15, N 7. – P. 835–843.
275. Reduced apoptosis of memory T-cells in the inner airway wall of mild and severe asthma / A.M. Vignola, J.P. Lamb, A. James et al. // *Eur. Respir. J.* – 2005. – Vol. 26, N 2. – P. 265–270.
276. Reduced basal salivary cortisol in children with asthma and allergic rhinitis / E. Bakkeheim, P. Mowinckel, K.H. Carlsen et al. // *Acta Paediatr.* – 2010. – Vol. 99, N 11. – P. 1705–1711.
277. Reduced eosinophil apoptosis in induced sputum correlates with asthma severity / C.J. Duncan, A. Lawrie, M.G. Blaylock et al. // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22, N 3. – P. 484–490.
278. Regulation of NFATc2 gene expression by the transcription factor Runx2 /

- K. Thirunavukkarasu, Y. Pei, T.L. Moore et al. // *Mol. Biol. Rep.* – 2007. – Vol. 34, N 1. – P. 1–10.
279. Regulation of Th2 cytokine genes by p38 MAPK-mediated phosphorylation of GATA-3 / K. Maneechotesuwan, Y. Xin, K. Ito et al. // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178, N 4. – P. 2491–2498.
280. Relationship between HLA-DQA1, -DQB1 genes polymorphism and susceptibility to bronchial asthma among Northern Hans / J. Gao, Y. Lin, C. Qiu et al. // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2002. – Vol. 82, N 6. – P. 379–383.
281. Reszka, K.J. Peroxidative metabolism of beta2-agonists salbutamol and fenoterol and their analogues / K.J. Reszka, D.W. McGraw, B.E. Britigan // *Chem. Res. Toxicol.* – 2009. – Vol. 22, N 6. – P. 1137–1150.
282. Ricci, M. Pathogenetic mechanisms and genetic aspects of bronchial asthma / M. Ricci, A. Matucci, O. Rossi // *ACI Int.* – 1997. – Vol. 9. – P. 141–148. /217
283. Rising prevalence of asthma but declining wheeze in teenagers (1995–2003): ISAAC protocol / P.J. Manning, P. Goodman, A. O'Sullivan et al. // *Ir. Med. J.* – 2007. – Vol. 100, N 10. – P. 614–615.
284. Robinson, D.S. The Th1 and Th2 concept in atopic allergic disease / D.S. Robinson // *Chem. Immunol.* – 2000. – Vol. 78. – P. 50–61.
285. Rogatsky, I. Antagonism of glucocorticoid receptor transcriptional activation by the c-Jun N-terminal kinase / I. Rogatsky, S.K. Logan, M.J. Garabedian // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – Vol. 95, N 5. – P. 2050–2055.
286. Roitt, I.M. Immunology, physiology, pathology and clinic of bronchial asthma / I.M. Roitt. – London : Blackwell Scientific, 1999. – 266 p.
287. Romagnani, S. Role of Th2 lymphocytes in the genesis of allergic disorders and mechanisms involved in their development / S. Romagnani // *Asthma: Physiology, Immunopharmacology and Treatment* / ed. S.T. Holgate. – London : Academic Press, 1997. – Ch. 13. – P. 189–221.
288. Saadat, I. Influence of genetic polymorphisms of glutathione S-transferase T1 (GSTT1) and M1 (GSTM1) on hematological parameters / I. Saadat, M. Saadat // *Mol. Biol. Rep.* – 2010. – Vol. 37, Vol. 1. – P. 249–253.

289. Serum matrix metalloproteinase-9: Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with steroid responsiveness in moderate to severe asthma / M. Bossé, J. Chakir, M. Rouabhia et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 159, N 2. – P. 596–602.
290. Severe adult-onset asthma: A distinct phenotype / M. Amelink, J.C. de Groot, S.B. de Nijs et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 132, N 2. – P. 336–341.
291. Severe airway hyperresponsiveness in school-aged boys with a high body mass index / A.S. Jang, J.H. Lee, S.W. Park et al. // *Korean J. Intern. Med.* – 2006. – Vol. 21, N 1. – P. 10–14.
292. Severity assessment in asthma: an evolving concept / M.K. Miller, C. Johnson, D.P. Miller et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 116. – P. 990–995.
293. Severity of asthma: the role of CD25+, CD30+, NF-kappaB, and apoptotic markers / A.S. Abdulmir, H.S. Kadhim, R.R. Hafidh et al. // *J. Investig. Allergol Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 19, N 3. – P. 218–224.
294. Shiina, T. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004 / T. Shiina, H. Inoko, J.K. Kulski // *Tissue Antigens.* – 2004. – Vol. 64, N 6. – P. 631–649.
295. Shin, J. Pharmacogenomics: from discovery to patient care / J. Shin, S.R. Kayser, T. Langae // *Am. J. HealthSyst. Pharm.* – 2009. – Vol. 66. – P. 625–637.
296. Shore, S.A. Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness / S.A. Shore, J.J. Fredberg // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 115, N 5. – P. 925–927.
297. Significant association between asthma risk and the GSTM1 and GSTT1 deletion polymorphisms: an updated meta-analysis of case-control studies / S. Liang, X. Wei, C. Gong et al. // *Respirology.* – 2013. – Vol. 18, N 5. – P. 774–783.
298. Siroux, V. The investigation of asthma phenotypes / V. Siroux, J. Garcia-Aymerich // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 11, N 5. – P.

- 393–399.
299. Smith, H. Asthma, inflammation, eosinophils and bronchial hyperresponsiveness / H. Smith // *Clin. Exp. Allergy*. – 2002. – Vol. 22. – P. 187–197.
300. Smyth, G.K. Limma: linear models for microarray data // *Bioinformatics and Computational Biology Solutions using R and Bioconductor* / eds. R. Gentleman, V. Carey, S. Dudoit et al. – New York : Springer, 2005. – P. 397–420.
301. Social stress enhances allergen-induced airway inflammation in mice and inhibits corticosteroid responsiveness of cytokine production / M.T. Bailey, S. Kierstein, S. Sharma et al. // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 182, N 12. – P. 7888–7896.
302. Specific IgE against *Staphylococcus aureus* enterotoxins: an independent risk factor for asthma / C. Bachert, K. van Steen, N. Zhang et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 130, N 2. – P. 376–381.
303. Stability of asthma control with regular treatment: an analysis of the Gaining Optimal Asthma control (GOAL) study / E.D. Bateman, J. Bousquet, W.W. Busse et al. // *Allergy*. – 2008. – Vol. 63, N 7. – P. 932–938.
304. Standardisation of spirometry / M.R. Miller, J. Hankinson, V. Brusasco et al. // *Eur. Respir. J.* – 2005. – Vol. 26. – P. 319–338.
305. Suboptimal asthma control: prevalence, detection and consequences in general practice / K.R. Chapman, L.P. Boulet, R.M. Rea et al. // *Eur. Respir. J.* – 2008. – Vol. 31, N 2. – P. 320–325.
306. Sulfation of budesonide by human cytosolic sulfotransferase, dehydroepiandrosterone-sulfotransferase (DHEA-ST) / C.A. Meloche, V. Sharma, S. Swedmark et al. // *Drug Metab. Dispos.* – 2002. – Vol. 30, N 5. – P. 582–585.
307. Sustained T-bet expression confers polarized human TH2 cells with TH1-like cytokine production and migratory capacities / G. Lametschwandtner, T. Biedermann, C. Schwarzler et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol.

113. – P. 987–994.
308. Synergistic effects of fluticasone propionate and salmeterol on in vitro T-cell activation and apoptosis in asthma / E. Pace, R. Gagliardo, M. Melis et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 114, N 5. – P. 1216–1223.
309. T helper type 2 cytokine receptors and associated transcription factors GATA-3, c-MAF, and signal transducer and activator of transcription factor-6 in induced sputum of atopic asthmatic patients / R. Taha, Q. Hamid, L. Cameron, R. Olivenstein // *Chest.* – 2003. – Vol. 123, N 6. – P. 2074–2082.
310. Tachyphylaxis to β 2agonists in Spanish asthmatic patients could be modulated by β 2adrenoceptor gene polymorphisms / J.J. Telleria, A. Blanco-Quiros, S. Muntion et al. // *Respir. Med.* – 2006. – Vol. 100. – P. 1072–1078.
311. Tanabe, M. Using the KEGG database resource / M. Tanabe, M. Kanehisa // *Current Protocols in Bioinformatics.* – 2012. – Ch. 1. – URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/sci-hub.org/doi/10.1002/0471250953.bi0112s38/pdf>.
312. Taussig, R. Type-specific regulation of mammalian adenylyl cyclases by G protein pathways / R. Taussig, G. Zimmermann // *Adv. Second Messenger Phosphoprotein Res.* – 1998. – Vol. 32. – P. 81–98.
313. T-bet deficiency facilitates airway colonization by *Mycoplasma pulmonis* in a murine model of asthma / C.S. Bakshi, M. Malik, P.M. Carrico, T.J. Sellati // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, N 3. – P. 1786–1795.
314. T-bet is required for optimal production of IFN-gamma and antigen-specific T cell activation by dendritic cells / G. Lugo-Villarino, R. Maldonado-Lopez, R. Possemato et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol. 100. – P. 7749–7754.
315. T-bet polymorphisms are associated with asthma and airway hyperresponsiveness / B.A. Raby, E.S. Hwang, K. van Steen et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 173, N 1. – P. 64–70.
316. T-bet regulates Th1 responses through essential effects on GATA-3 function rather than on IFNG gene acetylation and transcription / T. Usui, J.C. Preiss,

- Y. Kanno et al. // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 203, N 3. – P. 755–766.
317. TBX21: a functional variant predicts improvement in asthma with the use of inhaled corticosteroids / K.G. Tantisira, E.S. Hwang, B.A. Raby et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101, N 52. – P. 18099–18104.
318. The associations between childhood asthma and atopy, and parental asthma, hay fever and smoking / M.A. Jenkins, J.L. Hopper, L.B. Flander et al. // *Paediatr. Perinat Epidemiol.* – 1993. – Vol. 7, N 1. – P. 67–76.
319. The associations of polymorphism C3435T multidrug resistance gene (MDR1) and regimen of inhaled glucocorticosteroid therapy in bronchial asthma (BA) patients / Z.A. Mironova, V.I. Trofimov, E.D. Ianchina et al. // *Europ. Respir. J.* – 2008. – Vol. 32, N 52. – P. 633.
320. The C-C chemokine receptors CCR4 and CCR8 identify airway T cells of allergen-challenged atopic asthmatics / P. Panina-Bordignon, A. Papi, M. Mariani et al. // *J. Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 107, N 11. – P. 1357–1364.
321. The cell type-specific expression of the murine IL-13 gene is regulated by GATA-3 / H. Kishikawa, J. Sun, A. Choi et al. // *J. Immunol.* – 2001. – Vol. 167, N 8. – P. 4414–4420.
322. The effect of polymorphisms on the β 2-adrenergic receptor on the response to regular use of albuterol in asthma / E. Israel, J.M. Drazen, S.B. Liggett et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 162. – P. 75–80.
323. The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22, N 3. – P. 470–477.
324. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report / M. Masoli, D. Fabian, S. Holt et al. // *Allergy.* – 2004. – Vol. 59, N 5. – P. 469–478.
325. The role of natural killer T cells in the pathogenesis of acute exacerbation of human asthma / Y.I. Koh, J.U. Shim, J. Wi, Y.E. Kwon // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2012. – Vol. 158, N 2. – P. 131–141.

326. The transcription levels of linker for activation of T cell and its upstream regulatory factors in T cells of asthmatic patients / X.J. Guo, J. Li, P.H. Ni et al. // *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. – 2008. – Vol. 31, N 2. – P. 125–128.
327. The use of the Asthma Control Test in general practice and its correlation with asthma control according to the GINA guidelines / D. Miedinger, E. Neukomm, P.N. Chhajed et al. // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2011. – Vol. 27, N 12. – P. 2301–2308.
328. Thomas, S.Y. Natural killer T cells are not the predominant T cell in asthma and likely modulate, not cause, asthma / S.Y. Thomas, Y.H. Chyung, A.D. Luster // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125, N 5. – P. 980–984.
329. Tillie-Leblond, I. Airway remodeling is correlated with obstruction in children with severe asthma / I. Tillie-Leblond, J. de Blic, F. Jaubert // *Allergy*. – 2008. – Vol. 63, N 5. – P. 533–541.
330. Toll-like receptor 2, 3, and 4 expression and function in human airway smooth muscle / M.B. Sukkar, S. Xie, N.M. Khorasani et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 118, N 3. – P. 641–648.
331. Transcription factor GATA-3 is differentially expressed in murine Th1 and Th2 cells and controls Th2-specific expression of the interleukin-5 gene / D.H. Zhang, L. Cohn, P. Ray et al. // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272, N 34. – P. 21597–21603.
332. Transcription factors T-bet and GATA-3 regulate development of airway remodeling / T. Kiwamoto, Y. Ishii, Y. Morishima, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 174, N 2. – P. 142–151.
333. Transcriptome analysis reveals upregulation of bitter taste receptors in severe asthmatics / C.O. Pietras, A. James, J.R. Konradsen et al. // *Eur. Respir. J.* – 2013. – Vol. 42, N 1. – P. 65–78.
334. Transforming growth factor- β 1 promoter polymorphism C-509T is associated with asthma / E.S. Silverman, L.J. Palmer, V. Subramaniam et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 169. – P. 214–219.
335. Treatment of allergic airway inflammation and hyperresponsiveness by

- imiquimod modulating transcription factors T-bet and GATA-3 / T. Bian, K.S. Yin, S.X. Jin et al. // *Chin. Med. J. (Engl)*. – 2006. – Vol. 119, N 8. – P. 640–648.
336. Tschopp, J. NALPs: a novel protein family involved in inflammation / J. Tschopp, F. Martinon, K. Burns // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2003. – Vol. 4, N 2. – P. 95–104.
337. Turato, G. The laws of attraction: chemokines, neutrophils and eosinophils in severe exacerbations of asthma / G. Turato, S. Baraldo, R. Zuin // *Thorax*. – 2007. – Vol. 62, N 6. – P. 465–466.
338. Uddin, M. Prosurvival activity for airway neutrophils in severe asthma / M. Uddin, G. Nong, J. Ward // *Thorax*. – 2010. – Vol. 65, N 8. – P. 684–689.
339. Umetsu, D.T. Natural killer T cells are important in the pathogenesis of asthma: the many pathways to asthma / D.T. Umetsu, R.H. Dekruyff // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125, N 5. – P. 975–979.
340. Univariate and multivariate family-based association analysis of the IL-13 ARG130GLN polymorphism in the Childhood Asthma Management Program / D.L. DeMeo, C. Lange, E.K. Silverman et al. // *Genet. Epidemiol.* – 2002. – Vol. 23, N 4. – P. 335–348.
341. Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotypestratified, randomized, placebocontrolled crossover trial / E. Israel, V.M. Chinchilli, J.G. Ford et al. // *Lancet*. – 2004. – Vol. 364. – P. 1505–1512.
342. Variable-length poly-C tract polymorphisms of the beta2adrenergic receptor 3'UTR alter expression and agonist regulation / A. Panebra, M.R. Schwarb, S.M. Swift et al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2008. – Vol. 294. – P. L190–L195.
343. Variants of NOS1, NOS2, and NOS3 genes in asthmatics / P.S. Gao, H. Kawada, T. Kasamatsu et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – Vol. 267, N 3. – P. 761–763.
344. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory

- Health Survey (ECRHS) // *Eur. Respir. J.* – 1996. – Vol. 9. – P. 687–695.
345. Vercelli, D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy / D. Vercelli // *Nat. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 169–182.
346. Vignola, A.M. Proliferation and activation of bronchial epithelial cells in corticosteroid-dependent asthma / A.M. Vignola, G. Chiappara, L. Siena // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2001. – Vol. 108, N 5. – P. 738–746.
347. Voelkel, N.F. Why is effective treatment of asthma so difficult? An integrated systems biology hypothesis of asthma / N.F. Voelkel, S. Spiegel // *Immunol. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 87, N 8. – P. 601–605.
348. Wende, H. Extensive gene duplications and a large inversion characterize the human leukocyte receptor cluster / H. Wende, A. Volz, A. Ziegler // *Immunogenetics.* – 2000. – Vol. 51. – P. 703–713.
349. Wenzel, S. Severe asthma in adults / S. Wenzel // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172. – P. 149–160.
350. Wenzel, S.E. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes / S.E. Wenzel // *Lancet.* – 2006. – Vol. 368. – P. 804–813.
351. Wilson, J. The bronchial microcirculation in asthma / J. Wilson // *Clin. Exp. Allergy.* – 2000. – Vol. 30, suppl. 1. – P. 51–53.
352. Wilson, J.W. The importance of the airway microvasculature in asthma / J.W. Wilson, S. Hii // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 6. – P. 51–55.
353. Wilson, S.J. Effects of budesonide and formoterol on NF-kappaB, adhesion molecules, and cytokines in asthma / S.J. Wilson, A. Wallin, G. Della-Cioppa // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 164, N 6. – P. 1047–1052.
354. Wood, P.R. Mycoplasma pneumoniae in children with acute and refractory asthma / P.R. Wood, V.L. Hill, M.L. Burks // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2013. – Vol. 110, N 5. – P. 328–334.
355. Worldwide severity and control of asthma in children and adults: the global asthma insights and reality surveys / F. Klaus, A. Mitsuru, K.W. Christopher et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 114, N 1. – P. 40–47.

356. Yoo, Y. Phenotypes and endotypes of severe asthma in children / Y. Yoo // Korean J. Pediatr. – 2013. – Vol. 56, N 5. – P. 191–195.
357. Zele, van T. Role of Staphylococcus aureus in upper respiratory infections / T. van Zele, P. Gevaert // Verh. K. Acad. Geneesk. Belg. – 2008. – Vol. 70, N 5–6. – P. 369–378.
358. Zhang, D.H. Differential responsiveness of the IL-5 and IL-4 genes to transcription factor GATA-3 / D.H. Zhang, L. Yang, A. Ray // J. Immunol. – 1998. – Vol. 161, N 8. – P. 3817–3821.

Приложения

Приложение А. Сравнительный анализ уровня генной экспрессии. Полный перечень генов с дифференциальной экспрессией с уровнем статистической значимости $p < 0,01$ / $p < 0,05$ и любым значением FC

Таблица А.1

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА
на Визите 1

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	17,30	<0,00001
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	6,26	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	12,19	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	15,67	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	22,77	<0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	26,71	<0,00001
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	9,66	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	21,79	0,00002
7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,38	0,00002
8105908	OCLN /// LOC647859	occludin /// occludin pseudogene	0,23	0,00002
8107044	ERAP2	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	0,26	0,00002
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	10,40	0,00002
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	3,05	0,00004
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	3,22	0,00012
7945371	IFITM3	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)	0,19	0,00027
8176384	ZFY	zinc finger protein, Y-linked	3,85	0,00027
8031398	NLRP2	NLR family, pyrin domain containing 2	0,37	0,00029
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,25	0,00029
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	3,00	0,00067
8030366	RPL13A /// SNORD35A	ribosomal protein L13a /// small nucleolar RNA, C/D box 35A	0,20	0,00106
7972932	FLJ41484	hypothetical LOC650669	0,34	0,00140
8090555	H1FX	H1 histone family, member X	0,46	0,00140
8093104	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	2,35	0,00141
7905746	AQP10	aquaporin 10	0,41	0,00147

7923547	CHI3L1	chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)	2,52	0,00147
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	3,10	0,00155
7916862	WLS	wntless homolog (Drosophila)	2,16	0,00162
8174509	GNG5	guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 5	0,57	0,00165
8141829	POLR2J3 /// POLR2J2 /// UPK3BL /// POLR2J4	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J3 /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J2 /// uroplakin 3B-like /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J4, pseudogene	0,51	0,00202
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	2,70	0,00276
8160670	AQP3	aquaporin 3 (Gill blood group)	0,46	0,00303
8141791	POLR2J3 /// UPK3BL /// POLR2J2	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J3 /// uroplakin 3B-like /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J2	0,42	0,00441
7961187	KLRC1	killer cell lectin-like receptor subfamily C, member 1	2,88	0,00502
8019357	DCXR	dicarbonyl/L-xylulose reductase	0,65	0,00502
8068713	MX1	myxovirus (influenza virus) resistance 1, interferon-inducible protein p78 (mouse)	0,19	0,00502
8071036	S100B	S100 calcium binding protein B	0,35	0,00502
7917052	SLC44A5	solute carrier family 44, member 5	0,52	0,00508
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,50	0,00621
7974270	ATL1	atlastin GTPase 1	0,55	0,00659
8073752	FAM118A	family with sequence similarity 118, member A	1,87	0,00662
7914127	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	0,18	0,00691
7958895	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3, 100kDa	0,16	0,00730
8039236	LILRA5	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 5	0,46	0,00730
8068612	WRB	tryptophan rich basic protein	1,71	0,00730
8127767	ELOVL4	elongation of very long chain fatty acids (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, yeast)-like 4	0,48	0,00799
8118556	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,25	0,00837
8007794	NBR2 /// ARL17A /// ARL17B	neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B	0,49	0,00902
7983928	LIPC	lipase, hepatic	2,10	0,00910
8016285	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC646043 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// nucleosome-remodeling factor subunit BPTF-like /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,52	0,00932

7984227	ANKDD1A /// PLEKHO2	ankyrin repeat and death domain containing 1A /// pleckstrin homology domain containing, family O member 2	1,78	0,00990
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,54	0,00995

Таблица А.2

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА
на Визите 1

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	17,84	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	14,99	<0,00001
8165646	NC_001807	NC_001807	2,74	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	10,73	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	20,00	0,00001
8112376	CENPK	centromere protein K	5,76	0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	21,47	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	24,18	0,00001
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	0,31	0,00003
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	8,09	0,00004
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	9,22	0,00010
7950447	XRRA1 /// RNF169	X-ray radiation resistance associated 1 /// ring finger protein 169	0,45	0,00019
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	3,69	0,00028
8093950	S100P	S100 calcium binding protein P	0,33	0,00033
8039236	LILRA5	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 5	0,38	0,00047
8043043	DNAH6	dynein, axonemal, heavy chain 6	0,45	0,00063
7953291	CD9	CD9 molecule	0,34	0,00073
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	0,26	0,00073
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	2,60	0,00073
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,11	0,00073
8034199	TSPAN16	tetraspanin 16	2,27	0,00086
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	2,83	0,00095
7903592	KIAA1324	KIAA1324	0,20	0,00154
8055183	SMPD4	sphingomyelin phosphodiesterase 4, neutral membrane (neutral	2,02	0,00180

		sphingomyelinase-3)		
8176384	ZFY	zinc finger protein, Y-linked	3,30	0,00215
8039226	LILRA3	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (without TM domain), member 3	0,51	0,00364
7898736	HSPC157	hypothetical LOC29092	1,82	0,00546
7921690	ITLN1	intelectin 1 (galactofuranose binding)	0,42	0,00546
8094936	LOC280665 /// CNGA1	anti-CNG alpha 1 cation channel translation product-like /// cyclic nucleotide gated channel alpha 1	0,44	0,00546
8149574	CSGALNACT 1	chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1	0,54	0,00546
8140709	KIAA1324L	KIAA1324-like	2,97	0,00570
8170834	TKTL1	transketolase-like 1	0,54	0,00598
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	1,76	0,00754
8093104	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	2,15	0,00754
8104139	LOC389834	ankyrin repeat domain 57 pseudogene	2,29	0,00754
8155944	ENST0000045 1550 /// GENSCAN00 000019356	ENST00000451550 /// GENSCAN00000019356	0,44	0,00754
8162191	LOC392364	chromosome 15 open reading frame 2 pseudogene	0,49	0,00754
8076463	RRP7B	ribosomal RNA processing 7 homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	2,38	0,00875
8071044	MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// ТЕКТ4P1	MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	2,01	0,00880
8137264	TMEM176A	transmembrane protein 176A	0,36	0,00924

Таблица А.3

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТРБА и легкой БА
на Визите 1

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8165646	NC_001807	NC_001807	0,33	<0,00001
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	0,44	0,00005
8016285	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC646043 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// nucleosome-remodeling factor subunit BPTF-like /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,39	0,00006
8016300	ARL17A /// ARL17B ///	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of	0,38	0,00006

	NBR2 /// LOC10029434 1	BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like protein 17- like		
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	3,62	0,00006
8119223	FLJ45825	hypothetical protein LOC646888	0,17	0,00006
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	2,93	0,00006
8009243	C17orf60	chromosome 17 open reading frame 60	2,24	0,00007
7940717	SLC3A2	solute carrier family 3 (activators of dibasic and neutral amino acid transport), member 2	0,51	0,00012
8104139	LOC389834	ankyrin repeat domain 57 pseudogene	0,35	0,00015
7920594	PYGO2	pygopus homolog 2 (Drosophila)	0,50	0,00015
8076826	C22orf34	chromosome 22 open reading frame 34	0,43	0,00015
8079993	CYB561D2 /// NPRL2	cytochrome b-561 domain containing 2 /// nitrogen permease regulator-like 2 (S. cerevisiae)	0,55	0,00018
7994541	LAT /// SPNS1	linker for activation of T cells /// spinster homolog 1 (Drosophila)	0,49	0,00020
7933772	ANK3	ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	0,41	0,00025
7987145	FMN1	formin 1	0,28	0,00025
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,46	0,00026
8170834	TKTL1	transketolase-like 1	2,04	0,00026
8055183	SMPD4	sphingomyelin phosphodiesterase 4, neutral membrane (neutral sphingomyelinase-3)	0,48	0,00032
8007794	NBR2 /// ARL17A /// ARL17B	neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B	0,41	0,00032
8071044	MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// TEKT4P1	MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,44	0,00037
8129627	VNN3	vanin 3	3,05	0,00037
7925876	PFKP	phosphofructokinase, platelet	0,46	0,00056
7974366	PTGER2	prostaglandin E receptor 2 (subtype EP2), 53kDa	0,48	0,00060
8054945	BIN1	bridging integrator 1	0,48	0,00060
8139118	Y00482 /// ENST0000039 0344	Y00482 /// ENST00000390344	3,27	0,00060
8144228	FLJ36840	hypothetical LOC645524	2,25	0,00066
7945349	BET1L	blocked early in transport 1 homolog (S. cerevisiae)-like	0,43	0,00067
8071051	FLJ44253 /// MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// TEKT4P1	hypothetical gene supported by AK096952; AK126241; BC068588 /// MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,46	0,00067

8171136	CRLF2 /// P2RY8	cytokine receptor-like factor 2 /// purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8	0,54	0,00067
8177026	CRLF2 /// P2RY8	cytokine receptor-like factor 2 /// purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8	0,54	0,00067
7940391	CD6	CD6 molecule	0,53	0,00073
8094936	LOC280665 /// CNCA1	anti-CNG alpha 1 cation channel translation product-like /// cyclic nucleotide gated channel alpha 1	2,41	0,00073
7918457	KCNA3	potassium voltage-gated channel, shaker- related subfamily, member 3	0,44	0,00073
8030339	FLT3LG	fms-related tyrosine kinase 3 ligand	0,55	0,00076
8108558	SLC35A4	solute carrier family 35, member A4	0,53	0,00078
7953200	CCND2	cyclin D2	0,56	0,00082
8062557	PPP1R16B	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 16B	0,56	0,00087
7924760	ITPKB	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B	0,54	0,00090
7939559	TSPAN18	tetraspanin 18	0,43	0,00099
8029831	CALM3	calmodulin 3 (phosphorylase kinase, delta)	0,58	0,00104
7897378	PER3 /// UTS2	period homolog 3 (Drosophila) /// urotensin 2	0,58	0,00110
7921690	ITLN1	intelectin 1 (galactofuranose binding)	2,41	0,00112
7926105	GATA3	GATA binding protein 3	0,54	0,00112
8112376	CENPK	centromere protein K	0,31	0,00112
8005097	HS3ST3B1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O- sulfotransferase 3B1	0,52	0,00116
8043725	ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	0,45	0,00118
8080438	SPCS1 /// GLT8D1	signal peptidase complex subunit 1 homolog (<i>S. cerevisiae</i>) /// glycosyltransferase 8 domain containing 1	0,58	0,00118
7937802	CD81	CD81 molecule	0,50	0,00119
7982185	LOC10028965 6 /// DEXI	Dexi homolog (mouse) pseudogene /// Dexi homolog (mouse)	0,52	0,00119
7986685	LOC10028965 6 /// DEXI	Dexi homolog (mouse) pseudogene /// Dexi homolog (mouse)	0,52	0,00119
8160670	AQP3	aquaporin 3 (Gill blood group)	0,46	0,00119
7907092	MPZL1	myelin protein zero-like 1	1,93	0,00131
7934215	SPOCK2	sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan (testican) 2	0,51	0,00131
7940372	TMEM109	transmembrane protein 109	0,52	0,00131
7940409	CD5	CD5 molecule	0,46	0,00131
8020630	TTC39C	tetratricopeptide repeat domain 39C	0,52	0,00131
8101622	TECR	trans-2,3-enoyl-CoA reductase	0,51	0,00131
8140709	KIAA1324L	KIAA1324-like	0,34	0,00131
8170187	CD40LG	CD40 ligand	0,43	0,00131
8066493	SLPI	secretory leukocyte peptidase inhibitor	2,95	0,00137
7904869	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	0,55	0,00143

7904948	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	0,55	0,00143
7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,50	0,00143
7984704	NEO1	neogenin 1	0,52	0,00143
7963471	KRT73	keratin 73	2,20	0,00145
7995825	MT1F	metallothionein 1F	0,53	0,00151
8112615	ENC1	ectodermal-neural cortex 1 (with BTB-like domain)	1,92	0,00152
7922472	ENST0000041 2063	ENST00000412063	2,03	0,00155
8014925	MED24	mediator complex subunit 24	0,52	0,00155
8161017	SIT1	signaling threshold regulating transmembrane adaptor 1	0,50	0,00157
8033248	TNFSF14	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14	1,65	0,00158
8032576	AES	amino-terminal enhancer of split	0,49	0,00162
7898939	NIPAL3	NIPA-like domain containing 3	0,50	0,00163
7984364	SMAD3	SMAD family member 3	0,56	0,00163
8075924	MFNG	MFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N- acetylglucosaminyltransferase	0,52	0,00165
7909877	MOSC1	MOCO sulphurase C-terminal domain containing 1	1,84	0,00165
7948332	LPXN	leupaxin	0,57	0,00165
7973018	OR4K15	olfactory receptor, family 4, subfamily K, member 15	1,84	0,00165
8041508	QPCT	glutaminyl-peptide cyclotransferase	2,16	0,00165
8062286	C20orf4	chromosome 20 open reading frame 4	0,57	0,00165
8073072	APOBEC3D	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3D	0,59	0,00165
8084717	ST6GAL1	ST6 beta-galactosamide alpha-2,6- sialyltransferase 1	0,55	0,00165
8118682	PHF1	PHD finger protein 1	0,52	0,00165
8164883	SURF4	surfeit 4	0,64	0,00165
8045559	ENST0000049 6690	ENST00000496690	4,03	0,00176
8074842	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	0,56	0,00183
8027398	PLEKHF1	pleckstrin homology domain containing, family F (with FYVE domain) member 1	0,54	0,00184
7953749	CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D	3,40	0,00186
8150165	FUT10	fucosyltransferase 10 (alpha (1,3) fucosyltransferase)	0,57	0,00196
8077211	ATG4B	ATG4 autophagy related 4 homolog B (S. cerevisiae)	0,62	0,00204
8117435	BTN3A2	butyrophilin, subfamily 3, member A2	0,47	0,00208
7921367	SPTA1	spectrin, alpha, erythrocytic 1 (elliptocytosis 2)	2,00	0,00211
7921652	SLAMF1	signaling lymphocytic activation molecule family member 1	0,47	0,00211

8059279	EPHA4	EPH receptor A4	0,55	0,00211
8068788	UBASH3A	ubiquitin associated and SH3 domain containing A	0,50	0,00225
8163825	TRAF1	TNF receptor-associated factor 1	0,55	0,00225
8150364	TM2D2	TM2 domain containing 2	0,50	0,00228
7923547	CHI3L1	chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)	2,22	0,00236
8179235	HCG27	HLA complex group 27	1,84	0,00236
8046116	G6PC2	glucose-6-phosphatase, catalytic, 2	1,97	0,00239
8155944	ENST00000451550 /// GENSCAN0000019356	ENST00000451550 /// GENSCAN0000019356	2,22	0,00240
7980327	ANGEL1	angel homolog 1 (Drosophila)	0,60	0,00247
7924733	PARP1	poly (ADP-ribose) polymerase 1	0,54	0,00255
8139778	ENST00000488211 /// ENST00000484518	ENST00000488211 /// ENST00000484518	2,35	0,00257
7921637	CD84	CD84 molecule	0,49	0,00269
8093456	C4orf42	chromosome 4 open reading frame 42	0,57	0,00269
8166925	MAOA	monoamine oxidase A	1,89	0,00269
8074748	PI4KA /// PI4KAP2 /// PI4KAP1	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 2 /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 1	0,60	0,00273
8049888	ATG4B	ATG4 autophagy related 4 homolog B (S. cerevisiae)	0,63	0,00273
8178199	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,40	0,00273
8179489	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	0,40	0,00273
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	2,40	0,00275
7907439	PRDX6	peroxiredoxin 6	2,52	0,00275
8002266	CHTF8	CTF8, chromosome transmission fidelity factor 8 homolog (S. cerevisiae)	0,64	0,00275
8022557	ENST00000362496	ENST00000362496	0,39	0,00275
8034871	ENST00000487444	ENST00000487444	2,36	0,00275
8036913	BLVRB	biliverdin reductase B (flavin reductase (NADPH))	2,67	0,00275
8078888	CCR8	chemokine (C-C motif) receptor 8	0,49	0,00275
8141425	TAF6 /// NXNL2	TAF6 RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor, 80kDa /// nucleoredoxin-like 2	0,63	0,00275
7929383	TMEM20	transmembrane protein 20	0,59	0,00279
8166184	CA5B	carbonic anhydrase VB, mitochondrial	0,55	0,00302
8179228	TCF19	transcription factor 19	0,56	0,00302
8007904	GOSR2	golgi SNAP receptor complex member 2	0,56	0,00306

8044605	LOC654433	hypothetical LOC654433	0,35	0,00306
8076176	CBX6	chromobox homolog 6	0,53	0,00306
8118915	ZNF76	zinc finger protein 76 (expressed in testis)	0,59	0,00306
7969638	ENST00000459449	ENST00000459449	2,64	0,00308
8010161	SEPT9	septin 9	0,52	0,00308
8040365	TRIB2	tribbles homolog 2 (Drosophila)	0,59	0,00308
8121861	NCOA7	nuclear receptor coactivator 7	0,51	0,00321
8015955	ATXN7L3	ataxin 7-like 3	0,55	0,00324
8044049	IL18RAP	interleukin 18 receptor accessory protein	2,56	0,00324
7981242	BCL11B	B-cell CLL/lymphoma 11B (zinc finger protein)	0,59	0,00335
8129637	VNN2	vanin 2	2,12	0,00351
7948696	MTA2	metastasis associated 1 family, member 2	0,63	0,00356
7923662	PIK3C2B	phosphoinositide-3-kinase, class 2, beta polypeptide	0,50	0,00366
8053890	STARD7	StAR-related lipid transfer (START) domain containing 7	0,62	0,00366
7944152	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha	0,62	0,00373
8005313	DRG2	developmentally regulated GTP binding protein 2	0,65	0,00386
7949465	RELA	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (avian)	0,60	0,00388
7973105	RNASE3	ribonuclease, RNase A family, 3	3,05	0,00388
7997982	CDK10	cyclin-dependent kinase 10	0,55	0,00388
8010512	RPTOR	regulatory associated protein of MTOR, complex 1	0,59	0,00388
8137257	GIMAP5	GTPase, IMAP family member 5	0,53	0,00397
8177120	MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// TEKT4P1	MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,47	0,00413
7962058	TMTC1	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 1	2,84	0,00416
8000869	SEPT1	septin 1	0,59	0,00416
8070328	C21orf104	chromosome 21 open reading frame 104	1,81	0,00416
8066038	SLA2 /// C20orf24	Src-like-adaptor 2 /// chromosome 20 open reading frame 24	0,58	0,00420
7906622	LY9	lymphocyte antigen 9	0,61	0,00422
8119427	TREML4	triggering receptor expressed on myeloid cells-like 4	2,63	0,00422
8037037	ATP5SL	ATP5S-like	0,63	0,00438
8114536	TMEM173	transmembrane protein 173	0,55	0,00446
7950447	XRRA1 /// RNF169	X-ray radiation resistance associated 1 /// ring finger protein 169	1,72	0,00450
8012856	ELAC2	elaC homolog 2 (E. coli)	0,59	0,00455
8047078	MFSD6	major facilitator superfamily domain containing 6	0,60	0,00455
8035737	ATP13A1	ATPase type 13A1	0,60	0,00461
8016414	SKAP1	src kinase associated phosphoprotein 1	0,59	0,00474

7905746	AQP10	aquaporin 10	0,49	0,00475
8139256	URGCP	upregulator of cell proliferation	0,49	0,00476
7977103	ENST00000475117	ENST00000475117	1,75	0,00476
7904287	CD2	CD2 molecule	0,48	0,00479
7935230	ALDH18A1	aldehyde dehydrogenase 18 family, member A1	0,58	0,00497
8063394	PTPN1	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	0,69	0,00497
8019250	P4HB	prolyl 4-hydroxylase, beta polypeptide	0,61	0,00500
8075493	PATZ1	POZ (BTB) and AT hook containing zinc finger 1	0,56	0,00500
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	2,69	0,00500
7914617	AK2	adenylate kinase 2	0,55	0,00501
8069399	DIP2A	DIP2 disco-interacting protein 2 homolog A (Drosophila)	0,55	0,00504
8146159	AP3M2	adaptor-related protein complex 3, mu 2 subunit	0,56	0,00514
7932453	NEBL	nebulin	2,08	0,00514
7952046	MPZL2	myelin protein zero-like 2	1,91	0,00515
8039937	GLTPD1	glycolipid transfer protein domain containing 1	0,56	0,00515
7912257	CLSTN1	calsynenin 1	0,56	0,00517
7927732	ARID5B	AT rich interactive domain 5B (MRF1-like)	0,55	0,00517
8009685	SLC9A3R1	solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), member 3 regulator 1	0,62	0,00517
7967685	STX2	syntaxin 2	0,56	0,00519
8063115	MMP9	matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92kDa gelatinase, 92kDa type IV collagenase)	2,35	0,00538
8143188	CREB3L2	cAMP responsive element binding protein 3-like 2	0,58	0,00538
8130505	EZR	ezrin	0,57	0,00577
8163063	CTNNA1	catenin (cadherin-associated protein), alpha-like 1	2,15	0,00580
7923406	PTPN7	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 7	0,62	0,00583
7957242	ATXN7L3B	ataxin 7-like 3B	0,63	0,00583
8056005	ACVR1	activin A receptor, type I	0,58	0,00583
8101675	ABCG2	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 2	1,89	0,00583
7978272	LTBR2 /// CIDEA	leukotriene B4 receptor 2 /// cell death-inducing DFFA-like effector b	0,59	0,00597
8012257	TP53	tumor protein p53	0,54	0,00609
8044133	NCK2	NCK adaptor protein 2	0,64	0,00609
8056890	CHN1	chimerin (chimaerin) 1	0,41	0,00609
8149365	FAM86B1 /// FAM86B2	family with sequence similarity 86, member B1 /// family with sequence similarity 86, member B2	0,63	0,00609

8157446	ORM1	orosomuroid 1	3,76	0,00611
7905754	ATP8B2	ATPase, class I, type 8B, member 2	0,56	0,00628
7986323	GLTSCR2	glioma tumor suppressor candidate region gene 2	0,55	0,00644
8068151	KRTAP22-1	keratin associated protein 22-1	1,69	0,00644
8036525	MAP4K1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 1	0,57	0,00700
8013450	LGALS9B /// LGALS9C /// LGALS9	lectin, galactoside-binding, soluble, 9B /// lectin, galactoside-binding, soluble, 9C /// lectin, galactoside-binding, soluble, 9	0,52	0,00702
7901601	MRPL37	mitochondrial ribosomal protein L37	0,65	0,00702
7939465	HSD17B12	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 12	0,54	0,00702
8136727	TRBV27 /// TRBC1	T cell receptor beta variable 27 /// T cell receptor beta constant 1	0,67	0,00702
8139392	DDX56	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 56	0,59	0,00702
8173493	CXCR3	chemokine (C-X-C motif) receptor 3	0,62	0,00705
7973797	COCH	coagulation factor C homolog, cochlin (Limulus polyphemus)	0,61	0,00718
7974249	ARF6	ADP-ribosylation factor 6	0,62	0,00718
7918517	WDR77	WD repeat domain 77	0,55	0,00732
7936884	FAM53B	family with sequence similarity 53, member B	0,58	0,00732
7941946	NDUFV1	NADH dehydrogenase (ubiquinone) flavoprotein 1, 51kDa	0,61	0,00732
8008664	AKAP1	A kinase (PRKA) anchor protein 1	0,59	0,00732
8009693	TMEM104	transmembrane protein 104	0,69	0,00732
8038078	KDELR1	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 1	0,61	0,00732
8048340	RQCD1	RCD1 required for cell differentiation1 homolog (S. pombe)	0,59	0,00732
8074227	CECR5	cat eye syndrome chromosome region, candidate 5	0,62	0,00732
8075483	PIK3IP1	phosphoinositide-3-kinase interacting protein 1	0,53	0,00732
8077082	LMF2	lipase maturation factor 2	0,59	0,00732
8146790	ENST00000483220	ENST00000483220	1,93	0,00732
8161839	C9orf95	chromosome 9 open reading frame 95	0,44	0,00732
7922040	CD247	CD247 molecule	0,59	0,00741
7946380	TRIM66	tripartite motif-containing 66	0,56	0,00742
8038200	ENST00000384031	ENST00000384031	1,65	0,00742
7939524	EXT2	exostosin 2	0,63	0,00754
8090555	H1FX	H1 histone family, member X	0,56	0,00754
8070169	ENST00000486213	ENST00000486213	2,23	0,00761
8097098	USP53	ubiquitin specific peptidase 53	0,40	0,00761
7934755	MAT1A	methionine adenosyltransferase I, alpha	1,74	0,00767
7962516	SLC38A1	solute carrier family 38, member 1	0,59	0,00767

7995242	KIAA0664L3	KIAA0664-like 3	0,57	0,00767
8094759	NSUN7	NOP2/Sun domain family, member 7	1,86	0,00767
8159654	COBRA1	cofactor of BRCA1	0,64	0,00767
7912145	TNFRSF9	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9	1,68	0,00769
7927981	SUPV3L1	suppressor of var1, 3-like 1 (<i>S. cerevisiae</i>)	0,61	0,00771
7994756	PPP4C	protein phosphatase 4, catalytic subunit	0,69	0,00771
8018975	LGALS3BP	lectin, galactoside-binding, soluble, 3 binding protein	0,50	0,00771
8095697	CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)	1,54	0,00771
7944179	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)	0,48	0,00794
7920725	SCAMP3	secretory carrier membrane protein 3	0,68	0,00798
8062599	ENST00000493629	ENST00000493629	2,31	0,00798
8141846	FBXL13	F-box and leucine-rich repeat protein 13	2,34	0,00798
8164644	FAM78A	family with sequence similarity 78, member A	0,60	0,00811
8074577	PI4KAP2 /// PI4KAP1	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 2 /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 1	0,64	0,00823
7899528	OPRD1	opioid receptor, delta 1	1,85	0,00827
8100177	ENST00000516018	ENST00000516018	2,11	0,00827
7964631	FAM19A2	family with sequence similarity 19 (chemokine (C-C motif)-like), member A2	2,02	0,00842
8003576	TUBB4Q	tubulin, beta polypeptide 4, member Q	1,74	0,00857
8081214	GPR15	G protein-coupled receptor 15	0,35	0,00857
8110803	CLPTM1L	CLPTM1-like	0,61	0,00857
8068684	FAM3B	family with sequence similarity 3, member B	1,78	0,00857
7903565	GPSM2 /// CLCC1	G-protein signaling modulator 2 /// chloride channel CLIC-like 1	1,65	0,00867
7972932	FLJ41484	hypothetical LOC650669	0,46	0,00867
7989365	RORA	RAR-related orphan receptor A	0,52	0,00867
8050215	YWHAQP8 /// YWHAQ	YWHAQ pseudogene 8 /// tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, theta polypeptide	0,61	0,00867
8056222	DPP4	dipeptidyl-peptidase 4	0,51	0,00867
8075063	HPS4	Hermansky-Pudlak syndrome 4	0,61	0,00867
8165794	CD99	CD99 molecule	0,61	0,00867
8176360	CD99	CD99 molecule	0,61	0,00867
8119801	ABCC10	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 10	0,66	0,00881
7980828	CCDC88C	coiled-coil domain containing 88C	0,54	0,00887
8065817	GSS	glutathione synthetase	0,59	0,00890
7903334	CDC14A	CDC14 cell division cycle 14 homolog A (<i>S. cerevisiae</i>)	0,60	0,00895

7925726	OR13G1	olfactory receptor, family 13, subfamily G, member 1	1,85	0,00895
7974576	NAA30	N(alpha)-acetyltransferase 30, NatC catalytic subunit	0,70	0,00895
8075886	IL2RB	interleukin 2 receptor, beta	0,52	0,00895
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,57	0,00899
7986049	CRTC3	CREB regulated transcription coactivator 3	0,60	0,00912
8047677	CD28	CD28 molecule	0,53	0,00915
8073135	SMCR7L	Smith-Magenis syndrome chromosome region, candidate 7-like	0,65	0,00917
8148572	LY6E	lymphocyte antigen 6 complex, locus E	0,25	0,00917
7951896	PCSK7	proprotein convertase subtilisin/kexin type 7	0,62	0,00918
8095854	SEPT11	septin 11	0,58	0,00929
8142912	TMEM209	transmembrane protein 209	0,56	0,00929
8025395	RPS28	ribosomal protein S28	0,54	0,00933
8106528	ENST00000482584 /// ENST00000396129 2584 /// ENST00000396129 /// GENSCAN0000021066	ENST00000482584 /// ENST00000396129 /// GENSCAN0000021066	2,82	0,00933
8129377	ENST00000364743	ENST00000364743	1,68	0,00933
8154916	GALT	galactose-1-phosphate uridylyltransferase	0,58	0,00933
8063697	TH1L	TH1-like (Drosophila)	0,60	0,00942
8081030	ENST00000485429	ENST00000485429	1,71	0,00942
7920123	S100A10	S100 calcium binding protein A10	0,62	0,00942
7981530	GPR132	G protein-coupled receptor 132	0,62	0,00942
8008139	UBE2Z	ubiquitin-conjugating enzyme E2Z	0,59	0,00942
8018169	CD300LB	CD300 molecule-like family member b	0,66	0,00942
8119124	PII6	peptidase inhibitor 16	0,64	0,00958
8136709	LOC93432	maltase-glucoamylase-like pseudogene	2,14	0,00964
7915444	LEPRE1	leucine proline-enriched proteoglycan (leprecan) 1	0,65	0,00966
7991758	HBM	hemoglobin, mu	3,40	0,00983
8071036	S100B	S100 calcium binding protein B	0,43	0,00983
7932209	ENST00000413685	ENST00000413685	0,58	0,00984
8048120	ATIC	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	0,60	0,00984
8127051	TRAM2	translocation associated membrane protein 2	0,60	0,00991

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА
на Визите 3

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	16,40	0,00005
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	27,43	0,00039
8105908	OCLN /// LOC647859	occludin /// occludin pseudogene	0,19	0,00070
8120878	ENST00000384159	ENST00000384159	0,40	0,00070
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	10,29	0,00070
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	24,69	0,00070
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	13,67	0,00070
8030944	ZNF578	zinc finger protein 578	0,28	0,00166
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	12,15	0,00166
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	20,96	0,00338
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	4,52	0,00411
7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,38	0,00453
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	7,89	0,00475
8176384	ZFY	zinc finger protein, Y-linked	4,49	0,00546
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	3,35	0,00812
7972932	FLJ41484	hypothetical LOC650669	0,29	0,01522
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	2,78	0,01953
8134460	FLJ30064	hypothetical protein LOC644975	2,55	0,02437
7942779	ENST00000384089	ENST00000384089	4,41	0,03290
8031398	NLRP2	NLR family, pyrin domain containing 2	0,38	0,03290
8107044	ERAP2	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	0,32	0,03290
7920426	NUP210L	nucleoporin 210kDa-like	0,53	0,03742
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	3,38	0,03742
8073752	FAM118A	family with sequence similarity 118, member A	2,10	0,04205

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА
на Визите 3

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8165646	NC_001807	NC_001807	2,85	0,00001
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	9,96	0,00003
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	4,82	0,00005
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	8,81	0,00005
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	17,33	0,00005
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	10,24	0,00008
7950447	XRRA1 /// RNF169	X-ray radiation resistance associated 1 /// ring finger protein 169	0,44	0,00034
8112376	CENPK	centromere protein K	4,51	0,00034
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	14,93	0,00034
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	3,21	0,00065
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	15,02	0,00067
8093104	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	2,66	0,00079
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	0,36	0,00083
7903592	KIAA1324	KIAA1324	0,16	0,00096
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	0,25	0,00096
8149574	CSGALNACT1	chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1	0,48	0,00126
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	7,31	0,00142
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	2,66	0,00142
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	5,81	0,00168
8009243	C17orf60	chromosome 17 open reading frame 60	0,49	0,00186
7898736	HSPC157	hypothetical LOC29092	1,96	0,00238
8093950	S100P	S100 calcium binding protein P	0,37	0,00267
8039236	LILRA5	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 5	0,40	0,00326
8027398	PLEKHF1	pleckstrin homology domain containing, family F (with FYVE domain) member 1	2,02	0,00397
7908779	RNPEP	arginyl aminopeptidase (aminopeptidase B)	1,73	0,00420
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	1,88	0,00420
8043043	DNAH6	dynein, axonemal, heavy chain 6	0,49	0,00590
8095986	ANXA3	annexin A3	0,23	0,00707
8159873	ENST0000041	ENST00000411761 ///	2,46	0,00755

	1761 /// GENSCAN00 000001870	GENSCAN00000001870		
8034199	TSPAN16	tetraspanin 16	2,10	0,00838

Таблица А.6

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТЧБА и легкой БА
на Визите 4

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	18,84	<0,00001
8105908	OCLN /// LOC647859	occludin /// occludin pseudogene	0,16	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	15,80	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	11,82	<0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	26,72	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	20,59	<0,00001
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	10,43	<0,00001
7923547	CHI3L1	chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)	3,47	<0,00001
8107044	ERAP2	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	0,25	0,00001
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	3,78	0,00001
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	3,03	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	17,85	0,00001
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	3,60	0,00001
8073752	FAM118A	family with sequence similarity 118, member A	2,32	0,00002
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,49	0,00003
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	3,94	0,00003
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	8,35	0,00004
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	2,96	0,00013
7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,44	0,00014
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,48	0,00035
7917052	SLC44A5	solute carrier family 44, member 5	0,48	0,00040
7920426	NUP210L	nucleoporin 210kDa-like	0,54	0,00040
7944082	TAGLN /// PCSK7	transgelin /// proprotein convertase subtilisin/kexin type 7	0,44	0,00079
8031398	NLRP2	NLR family, pyrin domain containing 2	0,42	0,00079
8149835	LOC10012971	hypothetical LOC100129717 ///	0,47	0,00079

	7 /// NEFL	neurofilament, light polypeptide		
8176384	ZFY	zinc finger protein, Y-linked	3,19	0,00098
7987145	FMN1	formin 1	0,33	0,00108
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,48	0,00118
8007620	GRN	granulin	2,26	0,00124
7983928	LIPC	lipase, hepatic	2,21	0,00184
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	2,83	0,00208
7997662	KIAA0513	KIAA0513	1,87	0,00209
8069340	C21orf57	chromosome 21 open reading frame 57	0,55	0,00213
7905746	AQP10	aquaporin 10	0,45	0,00226
8093332	ZNF876P	zinc finger protein 876, pseudogene	1,98	0,00247
8150165	FUT10	fucosyltransferase 10 (alpha (1,3) fucosyltransferase)	0,57	0,00275
8141829	POLR2J3 /// POLR2J2 /// UPK3BL /// POLR2J4	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J3 /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J2 /// uroplakin 3B-like /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J4, pseudogene	0,55	0,00357
8009913	MYO15B	myosin XVB pseudogene	1,87	0,00516
8127767	ELOVL4	elongation of very long chain fatty acids (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, yeast)-like 4	0,49	0,00516
8097098	USP53	ubiquitin specific peptidase 53	0,36	0,00554
8037537	ERCC2	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 2	1,69	0,00564
7971602	RCBTB1	regulator of chromosome condensation (RCC1) and BTB (POZ) domain containing protein 1	0,52	0,00612
7985398	FAM154B	family with sequence similarity 154, member B	0,41	0,00612
7991758	HBM	hemoglobin, mu	4,05	0,00693
7973797	COCH	coagulation factor C homolog, cochlin (Limulus polyphemus)	0,58	0,00783
8093330	AK095510 /// AK124166	AK095510 /// AK124166	0,43	0,00821
7897824	MFN2	mitofusin 2	1,67	0,00869
7983661	ENST00000363735	ENST00000363735	0,27	0,00869
7967685	STX2	syntaxin 2	0,56	0,00969
8048432	CYP27A1	cytochrome P450, family 27, subfamily A, polypeptide 1	2,19	0,00969

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТЧБА и ТРБА
на Визите 4

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8176709	CYorf15B	chromosome Y open reading frame 15B	20,18	<0,00001
8165646	NC_001807	NC_001807	3,18	<0,00001
8177232	KDM5D	lysine (K)-specific demethylase 5D	18,78	<0,00001
8176578	USP9Y	ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked	13,71	<0,00001
8112376	CENPK	centromere protein K	7,14	<0,00001
8177137	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	28,23	<0,00001
8176624	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	20,05	<0,00001
8176698	CYorf15A	chromosome Y open reading frame 15A	9,34	0,00001
8176460	PRKY	protein kinase, Y-linked	3,27	0,00001
8176719	EIF1AY	eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked	20,63	0,00001
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	0,32	0,00002
8177261	TTY10	testis-specific transcript, Y-linked 10 (non-protein coding)	3,89	0,00002
8171136	CRLF2 /// P2RY8	cytokine receptor-like factor 2 /// purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8	2,20	0,00002
8177026	CRLF2 /// P2RY8	cytokine receptor-like factor 2 /// purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8	2,20	0,00002
8093950	S100P	S100 calcium binding protein P	0,30	0,00002
8104139	LOC389834	ankyrin repeat domain 57 pseudogene	3,09	0,00004
8076463	RRP7B	ribosomal RNA processing 7 homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	3,27	0,00004
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	2,13	0,00004
8074748	PI4KA /// PI4KAP2 /// PI4KAP1	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 2 /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 1	2,05	0,00004
7898736	HSPC157	hypothetical LOC29092	2,15	0,00005
8055183	SMPD4	sphingomyelin phosphodiesterase 4, neutral membrane (neutral sphingomyelinase-3)	2,27	0,00007
8071044	MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// TEKT4P1	MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	2,51	0,00007
7970376	ZNF828	zinc finger protein 828	2,17	0,00008
7940824	NAA40	N(alpha)-acetyltransferase 40, NatD	2,34	0,00013

		catalytic subunit, homolog (<i>S. cerevisiae</i>)		
8176384	ZFY	zinc finger protein, Y-linked	3,88	0,00013
8032730	EEF2	eukaryotic translation elongation factor 2	1,99	0,00014
7927552	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// AGAP5 /// AGAP6 /// AGAP9	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9	2,07	0,00014
8139107	TARP /// TRGV9	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma variable 9	3,00	0,00017
8043725	ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	2,50	0,00020
7934451	AGAP4 /// AGAP7 /// AGAP8 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6 /// AGAP10 /// AGAP9	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9	2,03	0,00021
7933427	AGAP4 /// AGAP9 /// AGAP8 /// AGAP7 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP10 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	1,99	0,00022
8071051	FLJ44253 /// MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// TEKT4P1	hypothetical gene supported by AK096952; AK126241; BC068588 /// MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	2,31	0,00026

8074577	PI4KAP2 /// PI4KAP1	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 2 /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 1	1,91	0,00026
8176375	RPS4Y1	ribosomal protein S4, Y-linked 1	7,05	0,00026
7906021	MSTO1 /// MSTO2P	misato homolog 1 (Drosophila) /// misato homolog 2 pseudogene	2,27	0,00028
8084717	ST6GAL1	ST6 beta-galactosamide alpha-2,6-sialyltransferase 1	2,04	0,00028
7908779	RNPEP	arginyl aminopeptidase (aminopeptidase B)	1,78	0,00029
8027398	PLEKHF1	pleckstrin homology domain containing, family F (with FYVE domain) member 1	2,09	0,00029
7931778	PITRM1	pitrilysin metallopeptidase 1	2,11	0,00032
8125461	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	0,27	0,00032
7933574	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	1,99	0,00034
7933252	AGAP4 /// AGAP9 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	2,01	0,00039
7933405	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP10 /// AGAP9 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	1,96	0,00039
8062286	C20orf4	chromosome 20 open reading frame 4	1,90	0,00039
7927353	AGAP4 ///	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin	2,00	0,00040

	AGAP9 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6		
7933331	AGAP4 /// AGAP9 /// AGAP10 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP8	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8	2,00	0,00040
8075886	IL2RB	interleukin 2 receptor, beta	2,51	0,00040
8140709	KIAA1324L	KIAA1324-like	3,35	0,00040
8034199	TSPAN16	tetraspanin 16	2,21	0,00041
8014925	MED24	mediator complex subunit 24	2,09	0,00044
7934906	ACTA2	actin, alpha 2, smooth muscle, aorta	0,44	0,00045
7948696	MTA2	metastasis associated 1 family, member 2	1,76	0,00045
8164644	FAM78A	family with sequence similarity 78, member A	1,99	0,00045
8139433	MYO1G	myosin IG	1,95	0,00045
7901219	NSUN4	NOP2/Sun domain family, member 4	2,08	0,00048
7958352	BTBD11	BTB (POZ) domain containing 11	1,90	0,00052
8043236	GNLY	granulysin	3,67	0,00052
8065963	RBM12 /// CPNE1	RNA binding motif protein 12 /// copine I	1,79	0,00052
8150537	SLC20A2	solute carrier family 20 (phosphate transporter), member 2	1,67	0,00052
8119801	ABCC10	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 10	1,75	0,00058
8170635	ZNF275	zinc finger protein 275	1,93	0,00060
8093476	KIAA1530	KIAA1530	1,90	0,00069
8065089	KIF16B	kinesin family member 16B	2,05	0,00069
7910164	ADCK3	aarF domain containing kinase 3	1,81	0,00072
8159873	ENST00000411761 /// GENSCAN000001870	ENST00000411761 /// GENSCAN00000001870	2,49	0,00076
7953291	CD9	CD9 molecule	0,38	0,00078
8022531	NPC1	Niemann-Pick disease, type C1	2,18	0,00078
8150962	TOX	thymocyte selection-associated high mobility group box	2,52	0,00079

7897236	KCNAB2	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 2	1,86	0,00082
7953749	CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D	0,26	0,00082
7994541	LAT /// SPNS1	linker for activation of T cells /// spinster homolog 1 (Drosophila)	1,86	0,00086
8009243	C17orf60	chromosome 17 open reading frame 60	0,52	0,00086
8134789	PILRB /// LOC10050634 1	paired immunoglobulin-like type 2 receptor beta /// transmembrane protein PVRIG-like	1,96	0,00086
8039859	KIR2DL4 /// KIR2DL5A	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 4 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A	2,47	0,00091
7948332	LPXN	leupaxin	1,83	0,00092
8082248	MGC72080	MGC72080 pseudogene	1,77	0,00092
8100177	ENST00000516018	ENST00000516018	0,39	0,00092
7967202	RHOF	ras homolog gene family, member F (in filopodia)	1,80	0,00094
8031358	KIR2DS2 /// KIR2DS4 /// KIR2DS1 /// KIR2DS5 /// KIR3DL1 /// KIR3DS1 /// KIR2DL5A	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 4 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 5 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A	2,90	0,00097
8037537	ERCC2	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 2	1,80	0,00101
7918487	DENND2D	DENN/MADD domain containing 2D	1,80	0,00101
7922040	CD247	CD247 molecule	1,91	0,00104
7923778	ELK4	ELK4, ETS-domain protein (SRF accessory protein 1)	1,68	0,00104
7935968	LDB1	LIM domain binding 1	1,83	0,00104
8039842	KIR2DS4 /// KIR2DS1 /// KIR3DL1 /// KIR2DL3 /// KIR2DL2 /// KIR2DS2 /// KIR3DP1 /// KIR2DL5A /// KIR2DL4	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 4 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 3 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor,	3,33	0,00104

		two domains, short cytoplasmic tail, 2 /// killer-cell Ig-like receptor /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 4		
8067040	NFATC2	nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic, calcineurin-dependent 2	2,20	0,00104
8139392	DDX56	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 56	1,92	0,00104
8156319	MGC72080	MGC72080 pseudogene	1,71	0,00104
7905464	C1orf230	chromosome 1 open reading frame 230	0,53	0,00105
7997982	CDK10	cyclin-dependent kinase 10	2,00	0,00105
8051814	ZFP36L2	zinc finger protein 36, C3H type-like 2	1,92	0,00105
8093456	C4orf42	chromosome 4 open reading frame 42	1,85	0,00105
7924760	ITPKB	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B	1,82	0,00107
8039871	KIR2DS1 /// KIR3DS1 /// KIR2DS2 /// KIR3DL1 /// KIR2DL5A	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A	2,86	0,00107
7981242	BCL11B	B-cell CLL/lymphoma 11B (zinc finger protein)	1,80	0,00109
8016414	SKAP1	src kinase associated phosphoprotein 1	1,85	0,00113
8082086	PARP15	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 15	2,75	0,00113
7940391	CD6	CD6 molecule	1,83	0,00117
7993310	MKL2	MKL/myocardin-like 2	1,77	0,00118
8062623	PLCG1	phospholipase C, gamma 1	1,93	0,00118
7982185	LOC10028965 6 /// DEXI	Dexi homolog (mouse) pseudogene /// Dexi homolog (mouse)	1,91	0,00118
7986685	LOC10028965 6 /// DEXI	Dexi homolog (mouse) pseudogene /// Dexi homolog (mouse)	1,91	0,00118
8005157	PIGL	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class L	2,03	0,00119
7932209	ENST0000041 3685	ENST00000413685	1,98	0,00122
7938111	FXC1	fracture callus 1 homolog (rat)	1,92	0,00122
7966600	SLC24A6	solute carrier family 24 (sodium/potassium/calcium exchanger), member 6	1,72	0,00122
8024728	ITGB1BP3	integrin beta 1 binding protein 3	0,54	0,00122
8010924	VPS53	vacuolar protein sorting 53 homolog (S. cerevisiae)	1,92	0,00124
8053949	KIAA1310	KIAA1310	1,87	0,00124
7904869	FAM108A1 ///	family with sequence similarity 108,	1,83	0,00124

	FAM108A11P	member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene		
7904948	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	1,83	0,00124
8074842	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	1,81	0,00124
8054758	DDX11L2 /// DDX11L9	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 2 /// DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 11 like 9	2,83	0,00125
8076449	RRP7B	ribosomal RNA processing 7 homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	1,77	0,00125
8019250	P4HB	prolyl 4-hydroxylase, beta polypeptide	1,78	0,00125
7914563	YARS	tyrosyl-tRNA synthetase	1,81	0,00127
7928705	TSPAN14	tetraspanin 14	1,74	0,00127
7949465	RELA	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (avian)	1,78	0,00127
8061428	ENTPD6	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 6 (putative)	1,69	0,00127
8162313	IARS	isoleucyl-tRNA synthetase	1,88	0,00127
8094936	LOC280665 /// CNGA1	anti-CNG alpha 1 cation channel translation product-like /// cyclic nucleotide gated channel alpha 1	0,45	0,00131
8031277	KIR2DL1 /// KIR2DL2 /// KIR2DS2 /// KIR2DL3	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 3	2,99	0,00132
7934459	NDST2	N-deacetylase/N-sulfotransferase (heparan glucosaminyl) 2	1,75	0,00134
8085431	NUP210	nucleoporin 210kDa	2,06	0,00134
8031328	KIR3DL1 /// KIR3DL2 /// LOC727787 /// KIR3DS1 /// KIR2DL5A /// KIR2DL4	killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 2-like /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 4	2,22	0,00136
8159692	ARRDC1	arrestin domain containing 1	1,76	0,00136
8031176	LENG8	leukocyte receptor cluster (LRC) member 8	2,25	0,00139

8039829	KIR2DL1 /// KIR2DL2 /// KIR2DS2 /// KIR2DS1 /// KIR2DL3	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 3	3,14	0,00139
8044473	POLR1B	polymerase (RNA) I polypeptide B, 128kDa	1,88	0,00139
7915444	LEPRE1	leucine proline-enriched proteoglycan (leprecan) 1	1,71	0,00141
8031297	KIR2DL1 /// KIR2DS1 /// KIR2DL3 /// KIR2DL2 /// KIR3DP1	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 3 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 2 /// killer-cell Ig-like receptor	3,02	0,00141
7994781	SULT1A3 /// SULT1A4 /// SLX1A /// SLX1B	sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 3 /// sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 4 /// SLX1 structure-specific endonuclease subunit homolog A (<i>S. cerevisiae</i>) /// SLX1 structure-specific endonuclease subunit homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	1,60	0,00144
8025697	ILF3	interleukin enhancer binding factor 3, 90kDa	2,02	0,00144
8116348	TBC1D9B	TBC1 domain family, member 9B (with GRAM domain)	1,89	0,00144
7934215	SPOCK2	sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan (testican) 2	1,92	0,00146
7974835	PRKCH	protein kinase C, eta	1,90	0,00146
8135876	SND1	staphylococcal nuclease and tudor domain containing 1	1,60	0,00146
7912412	MTOR	mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase)	1,72	0,00147
8118734	ITPR3	inositol 1,4,5-triphosphate receptor, type 3	1,91	0,00147
8050423	MYCNOS	v-myc myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived (avian) opposite strand	0,36	0,00147
7912937	PADI2	peptidyl arginine deiminase, type II	2,41	0,00147
7945831	OSBPL5	oxysterol binding protein-like 5	1,95	0,00148
8070239	HLCS	holocarboxylase synthetase (biotin-(propionyl-CoA-carboxylase (ATP-hydrolysing)) ligase)	1,72	0,00148
8110841	LPCAT1	lysophosphatidylcholine acyltransferase 1	1,60	0,00153

8045887	MGC72080	MGC72080 pseudogene	1,74	0,00155
8110362	GRK6	G protein-coupled receptor kinase 6	1,67	0,00155
7951896	PCSK7	proprotein convertase subtilisin/kexin type 7	1,78	0,00156
7971241	MGC72080 /// OR7E37P	MGC72080 pseudogene /// olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 37 pseudogene	1,73	0,00160
8024019	PTBP1	polypyrimidine tract binding protein 1	1,86	0,00160
8043043	DNAH6	dynein, axonemal, heavy chain 6	0,52	0,00160
8110090	SFXN1	sideroflexin 1	1,84	0,00160
7915363	SCMH1	sex comb on midleg homolog 1 (Drosophila)	1,92	0,00161
8000869	SEPT1	septin 1	1,78	0,00161
8128956	FYN	FYN oncogene related to SRC, FGR, YES	1,80	0,00167
7999634	LOC399491 /// NPIP /// PKD1P1 /// LOC642778 /// LOC10028833 2	GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein /// nuclear pore complex interacting protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// nuclear pore complex-interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein FLJ00285-like	2,34	0,00168
7974363	PTGDR	prostaglandin D2 receptor (DP)	2,73	0,00170
8153727	CPSF1	cleavage and polyadenylation specific factor 1, 160kDa	1,77	0,00172
8068684	FAM3B	family with sequence similarity 3, member B	0,51	0,00172
8112902	DHFR	dihydrofolate reductase	2,07	0,00172
7972003	KLF12	Kruppel-like factor 12	2,06	0,00176
8031346	KIR2DL4 /// KIR2DL5A	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 4 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A	2,14	0,00176
7980828	CCDC88C	coiled-coil domain containing 88C	2,09	0,00178
7986132	MAN2A2	mannosidase, alpha, class 2A, member 2	1,86	0,00178
8089261	CBLB	Cas-Br-M (murine) ecotropic retroviral transforming sequence b	1,90	0,00178
7927231	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// AGAP9 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	1,77	0,00179
7986049	CRTC3	CREB regulated transcription coactivator 3	1,84	0,00180

7968787	MGC72080 /// OR7E37P	MGC72080 pseudogene /// olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 37 pseudogene	1,73	0,00181
7907058	POU2F1	POU class 2 homeobox 1	1,89	0,00184
7923889	LGTN	ligatin	1,70	0,00184
7938390	ADM	adrenomedullin	0,52	0,00184
7952768	SNX19	sorting nexin 19	1,77	0,00184
7903592	KIAA1324	KIAA1324	0,25	0,00189
8109201	TIGD6 /// HMGXB3	tigger transposable element derived 6 /// HMG box domain containing 3	1,56	0,00199
7972946	RASA3	RAS p21 protein activator 3	1,92	0,00204
7979849	DCAF5	DDB1 and CUL4 associated factor 5	1,60	0,00206
7994603	SPN	sialophorin	1,91	0,00206
8040365	TRIB2	tribbles homolog 2 (Drosophila)	1,71	0,00206
8075924	MFNG	MFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N- acetylglucosaminyltransferase	1,87	0,00206
8123609	SERPINB9	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9	1,93	0,00206
8014768	PLXDC1	plexin domain containing 1	1,84	0,00209
7928369	SEC24C	SEC24 family, member C (<i>S. cerevisiae</i>)	1,74	0,00210
8067208	CTCFL	CCCTC-binding factor (zinc finger protein)-like	0,57	0,00210
8080226	DNAH1	dynein, axonemal, heavy chain 1	1,80	0,00212
7996252	M15530	M15530	0,46	0,00213
8031293	KIR2DL2 /// KIR2DL1 /// KIR2DL3	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 3	3,38	0,00213
8093104	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	2,07	0,00213
8154916	GALT	galactose-1-phosphate uridylyltransferase	1,89	0,00213
7983143	STARD9	StAR-related lipid transfer (START) domain containing 9	2,04	0,00215
7999614	LOC399491 /// PKD1P1 /// PKD1 /// NPIP /// LOC642778 /// LOC10028833 2	GPS, PLAT and transmembrane domain- containing protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) /// nuclear pore complex interacting protein /// nuclear pore complex-interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain- containing protein FLJ00285-like	2,19	0,00217
7953200	CCND2	cyclin D2	1,67	0,00218
7962516	SLC38A1	solute carrier family 38, member 1	1,83	0,00218
8139113	ENST0000042 7089 /// GENSCAN00 000020387	ENST00000427089 /// GENSCAN00000020387	2,43	0,00218
8165794	CD99	CD99 molecule	1,77	0,00218
8176360	CD99	CD99 molecule	1,77	0,00218

7945873	MGC72080	MGC72080 pseudogene	1,78	0,00219
8148385	TG	thyroglobulin	0,62	0,00219
8076836	BRD1	bromodomain containing 1	1,78	0,00220
7939265	NAT10	N-acetyltransferase 10 (GCN5-related)	1,78	0,00222
7994582	SULT1A3 /// SULT1A4 /// SLX1A /// SLX1B	sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 3 /// sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 4 /// SLX1 structure-specific endonuclease subunit homolog A (<i>S. cerevisiae</i>) /// SLX1 structure-specific endonuclease subunit homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	1,57	0,00222
8101429	PLAC8	placenta-specific 8	2,10	0,00223
7944152	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha	1,64	0,00235
7908732	IPO9	importin 9	1,75	0,00235
8009353	PITPNC1	phosphatidylinositol transfer protein, cytoplasmic 1	1,71	0,00237
8132922	MRPS17	mitochondrial ribosomal protein S17	0,56	0,00237
7996744	NFATC3	nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic, calcineurin-dependent 3	1,90	0,00243
8081710	SIDT1	SID1 transmembrane family, member 1	1,76	0,00244
7916135	CC2D1B	coiled-coil and C2 domain containing 1B	1,55	0,00251
8171111	LOC138412 /// SLC25A6	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 6, pseudogene /// solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 6	1,63	0,00252
8177003	LOC138412 /// SLC25A6	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 6, pseudogene /// solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 6	1,63	0,00252
8041508	QPCT	glutaminy-peptide cyclotransferase	0,49	0,00253
8139100	TARP /// TRGC2	TCR gamma alternate reading frame protein /// T cell receptor gamma constant 2	3,12	0,00254
8155944	ENST00000451550 /// 1550 /// GENSCAN0000019356	ENST00000451550 /// GENSCAN0000019356	0,46	0,00259
7927305	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	1,76	0,00264
8005733	NCOR1 ///	nuclear receptor corepressor 1 /// nuclear	2,07	0,00264

	C20orf191	receptor co-repressor 1 pseudogene		
7913805	RUNX3	runt-related transcription factor 3	1,81	0,00265
8009913	MYO15B	myosin XVB pseudogene	1,84	0,00265
8120184	TFAP2D	transcription factor AP-2 delta (activating enhancer binding protein 2 delta)	0,64	0,00265
8152079	PABPC1	poly(A) binding protein, cytoplasmic 1	1,70	0,00265
7945475	CDHR5	cadherin-related family member 5	0,55	0,00268
8119223	FLJ45825	hypothetical protein LOC646888	3,30	0,00268
7929831	HIF1AN	hypoxia inducible factor 1, alpha subunit inhibitor	1,62	0,00269
7950447	XRRA1 /// RNF169	X-ray radiation resistance associated 1 /// ring finger protein 169	0,57	0,00269
8060063	NDUFA10	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 10, 42kDa	1,55	0,00269
7927981	SUPV3L1	suppressor of var1, 3-like 1 (S. cerevisiae)	1,71	0,00275
8158829	BAT2L1	HLA-B associated transcript 2-like 1	2,03	0,00276
8174297	TEX13A	testis expressed 13A	0,51	0,00279
8095986	ANXA3	annexin A3	0,28	0,00280
7896744	OR4F3 /// OR4F16 /// OR4F29 /// OR4F21	olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 3 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 16 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 29 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 21	2,13	0,00282
7911345	OR4F3 /// OR4F16 /// OR4F29 /// OR4F21	olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 3 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 16 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 29 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 21	2,13	0,00282
8110672	OR4F3 /// OR4F16 /// OR4F29 /// OR4F21	olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 3 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 16 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 29 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 21	2,13	0,00282
8170834	TKTL1	transketolase-like 1	0,58	0,00282
7996081	GPR56	G protein-coupled receptor 56	2,37	0,00285
7997909	SPG7	spastic paraplegia 7 (pure and complicated autosomal recessive)	1,65	0,00297
8066964	TMEM189 /// TMEM189- UBE2V1 /// UBE2V1	transmembrane protein 189 /// TMEM189- UBE2V1 readthrough /// ubiquitin- conjugating enzyme E2 variant 1	1,59	0,00297
8082244	MGC72080	MGC72080 pseudogene	1,67	0,00297
7928800	FAM190B	family with sequence similarity 190, member B	1,80	0,00298
7899870	ZNF362	zinc finger protein 362	1,78	0,00299
7972888	PCID2	PCI domain containing 2	1,89	0,00299
8094228	BST1	bone marrow stromal cell antigen 1	0,56	0,00299
8110318	PRELID1	PRELI domain containing 1	1,79	0,00299

7921637	CD84	CD84 molecule	2,00	0,00301
8133366	WBSCR28	Williams-Beuren syndrome chromosome region 28	0,58	0,00302
7918457	KCNA3	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 3	1,99	0,00304
7936529	KIAA1598	KIAA1598	2,56	0,00304
8164304	ST6GALNAC6 /// LOC100131355	ST6 (alpha-N-acetyl-neuraminy-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 6 /// hypothetical protein LOC100131355	1,58	0,00308
8005441	SMCR8	Smith-Magenis syndrome chromosome region, candidate 8	1,67	0,00309
8008388	SPATA20	spermatogenesis associated 20	1,94	0,00309
8016077	GPATCH8	G patch domain containing 8	1,71	0,00309
8123044	TULP4	tubby like protein 4	1,77	0,00314
8054364	TGFBRAP1	transforming growth factor, beta receptor associated protein 1	1,70	0,00317
8112615	ENC1	ectodermal-neural cortex 1 (with BTB-like domain)	0,56	0,00317
7970716	LNX2	ligand of numb-protein X 2	1,67	0,00317
7939767	MADD	MAP-kinase activating death domain	1,68	0,00321
8033207	DENND1C	DENN/MADD domain containing 1C	1,66	0,00321
8093494	CRIPAK	cysteine-rich PAK1 inhibitor	2,51	0,00322
8032576	AES	amino-terminal enhancer of split	1,91	0,00326
8031374	FCAR	Fc fragment of IgA, receptor for	0,53	0,00328
8035737	ATP13A1	ATPase type 13A1	1,69	0,00330
8170863	RPL10 /// SNORA70	ribosomal protein L10 /// small nucleolar RNA, H/ACA box 70	2,30	0,00334
7899023	LDLRAP1	low density lipoprotein receptor adaptor protein 1	1,77	0,00334
7980859	C14orf184	chromosome 14 open reading frame 184	0,56	0,00334
8008139	UBE2Z	ubiquitin-conjugating enzyme E2Z	1,78	0,00334
8009301	PRKCA	protein kinase C, alpha	1,84	0,00334
8019211	NPLOC4	nuclear protein localization 4 homolog (S. cerevisiae)	1,49	0,00334
8033912	DNMT1	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 1	1,73	0,00334
8087885	BAP1	BRCA1 associated protein-1 (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase)	1,54	0,00334
8159702	EHMT1	euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 1	1,67	0,00334
8118580	BRD2	bromodomain containing 2	1,75	0,00341
8043098	ENST00000479962	ENST00000479962	0,58	0,00342
8074082	NCAPH2	non-SMC condensin II complex, subunit H2	1,61	0,00342
8128939	TRAF3IP2	TRAF3 interacting protein 2	1,60	0,00342
8068399	ENST00000363343	ENST00000363343	0,58	0,00347
8150974	ENST00000364361	ENST00000364361	1,99	0,00347
7943369	TMEM133	transmembrane protein 133	1,83	0,00348

7987248	GOLGA8A /// GOLGA8B	golgin A8 family, member A /// golgin A8 family, member B	2,07	0,00348
7920100	THEM5	thioesterase superfamily member 5	0,59	0,00356
8039084	ENST0000049 5551	ENST00000495551	0,53	0,00356
8130505	EZR	ezrin	1,80	0,00356
8093398	PCGF3	polycomb group ring finger 3	1,91	0,00357
8159006	SNORD36B	small nucleolar RNA, C/D box 36B	2,65	0,00360
7944185	CD3G	CD3g molecule, gamma (CD3-TCR complex)	1,69	0,00360
8071691	BCR	breakpoint cluster region	1,64	0,00361
7990511	PTPN9	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 9	1,69	0,00361
7935865	POLL	polymerase (DNA directed), lambda	2,01	0,00362
7951633	ALG9 /// FDXACB1	asparagine-linked glycosylation 9, alpha-1,2-mannosyltransferase homolog (S. cerevisiae) /// ferredoxin-fold anticodon binding domain containing 1	1,56	0,00362
7981775	GENSCAN00 000040585 /// GENSCAN00 000032018	GENSCAN00000040585 /// GENSCAN00000032018	0,46	0,00362
7988327	PATL2	protein associated with topoisomerase II homolog 2 (yeast)	2,02	0,00362
8005313	DRG2	developmentally regulated GTP binding protein 2	1,52	0,00362
8037290	PSG9	pregnancy specific beta-1-glycoprotein 9	0,54	0,00362
8063097	PCIF1	PDX1 C-terminal inhibiting factor 1	1,65	0,00362
8101757	GPRIN3	GPRIN family member 3	1,96	0,00362
8125172	EHMT2	euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 2	1,61	0,00362
8142143	COG5	component of oligomeric golgi complex 5	1,88	0,00362
8179884	EHMT2	euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 2	1,61	0,00362
8134777	PVRIG /// STAG3	poliovirus receptor related immunoglobulin domain containing /// stromal antigen 3	1,79	0,00365
8156263	SPIN1	spindlin 1	1,51	0,00367
8079563	DHX30	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 30	1,57	0,00368
7939365	FJX1	four jointed box 1 (Drosophila)	0,58	0,00370
8013272	CCDC144B /// CCDC144A /// CCDC144C	coiled-coil domain containing 144B /// coiled-coil domain containing 144A /// coiled-coil domain containing 144C	2,20	0,00370
8052798	AAK1	AP2 associated kinase 1	2,20	0,00370
8179504	BRD2	bromodomain containing 2	1,73	0,00370
8008682	MSI2	musashi homolog 2 (Drosophila)	1,73	0,00371
8039236	LILRA5	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 5	0,49	0,00374
8150877	SNORD54	small nucleolar RNA, C/D box 54	2,37	0,00377
8109821	RPL10	ribosomal protein L10	1,56	0,00377

7906475	FCRL6	Fc receptor-like 6	2,02	0,00382
8061725	ASXL1	additional sex combs like 1 (Drosophila)	1,61	0,00383
8141648	ACHE	acetylcholinesterase	0,58	0,00383
8142096	ATXN7L1	ataxin 7-like 1	1,71	0,00383
8144047	PAXIP1	PAX interacting (with transcription-activation domain) protein 1	1,64	0,00384
8169365	TMEM164	transmembrane protein 164	1,80	0,00387
7973314	OXA1L	oxidase (cytochrome c) assembly 1-like	1,52	0,00392
8070632	CBS	cystathionine-beta-synthase	0,64	0,00392
8076455	RRP7A /// RRP7B	ribosomal RNA processing 7 homolog A (S. cerevisiae) /// ribosomal RNA processing 7 homolog B (S. cerevisiae)	1,60	0,00392
8117667	ZNF187	zinc finger protein 187	2,02	0,00392
8008052	SP2	Sp2 transcription factor	1,80	0,00394
8144184	ESYT2	extended synaptotagmin-like protein 2	1,65	0,00400
8003773	RAP1GAP2	RAP1 GTPase activating protein 2	1,75	0,00400
7937782	TSPAN32	tetraspanin 32	1,65	0,00402
7945349	BET1L	blocked early in transport 1 homolog (S. cerevisiae)-like	1,97	0,00402
8000375	ARHGAP17	Rho GTPase activating protein 17	1,88	0,00402
8025895	PRKCSH	protein kinase C substrate 80K-H	1,57	0,00402
8049317	DGKD	diacylglycerol kinase, delta 130kDa	1,65	0,00402
8053909	SNRNP200	small nuclear ribonucleoprotein 200kDa (U5)	1,80	0,00402
8092035	PHC3	polyhomeotic homolog 3 (Drosophila)	1,78	0,00402
8122971	ARID1B	AT rich interactive domain 1B (SWI1-like)	2,09	0,00402
7970084	CARKD	carbohydrate kinase domain containing	1,61	0,00403
8005204	CCDC144B /// CCDC144A /// CCDC144C	coiled-coil domain containing 144B /// coiled-coil domain containing 144A /// coiled-coil domain containing 144C	2,29	0,00403
8005549	GRAPL /// GRAP	GRB2-related adaptor protein-like /// GRB2-related adaptor protein	1,94	0,00403
7934161	PRF1	perforin 1 (pore forming protein)	2,67	0,00403
8066641	ZNF335	zinc finger protein 335	1,66	0,00403
7994187	TNRC6A	trinucleotide repeat containing 6A	1,91	0,00410
7921625	SLAMF6	SLAM family member 6	1,96	0,00412
8017555	ERN1	endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1	1,59	0,00415
8158839	BAT2L1	HLA-B associated transcript 2-like 1	1,82	0,00415
8066590	TNNC2	troponin C type 2 (fast)	0,57	0,00417
7940409	CD5	CD5 molecule	1,92	0,00422
8022640	DHFR	dihydrofolate reductase	2,08	0,00426
8075483	PIK3IP1	phosphoinositide-3-kinase interacting protein 1	1,94	0,00426
7920238	S100A12	S100 calcium binding protein A12	0,33	0,00426
7941694	RBM14	RNA binding motif protein 14	1,69	0,00426
7951535	KDEL2	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) containing 2	1,70	0,00426
7952641	ARHGAP32	Rho GTPase activating protein 32	1,92	0,00426
7971134	C13orf23	chromosome 13 open reading frame 23	1,90	0,00426
8007904	GOSR2	golgi SNAP receptor complex member 2	1,71	0,00426
8016285	ARL17A ///	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-	1,83	0,00426

	ARL17B /// NBR2 /// LOC646043 /// LOC10029434 1	ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// nucleosome-remodeling factor subunit BPTF-like /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like		
8016300	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP- ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like protein 17- like	1,82	0,00426
8025498	RPL10 /// SNORA70	ribosomal protein L10 /// small nucleolar RNA, H/ACA box 70	2,30	0,00429
8104422	MTRR	5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase	1,81	0,00429
8043666	CNNM3	cyclin M3	1,67	0,00429
8019376	DUS1L	dihydrouridine synthase 1-like (S. cerevisiae)	1,62	0,00432
7981530	GPR132	G protein-coupled receptor 132	1,66	0,00434
8109507	ITK	IL2-inducible T-cell kinase	1,75	0,00434
8161192	RNF38	ring finger protein 38	1,66	0,00434
7921690	ITLN1	intelectin 1 (galactofuranose binding)	0,49	0,00435
8164883	SURF4	surfeit 4	1,48	0,00436
7901601	MRPL37	mitochondrial ribosomal protein L37	1,55	0,00442
7994826	ITGAL	integrin, alpha L (antigen CD11A (p180), lymphocyte function-associated antigen 1; alpha polypeptide)	2,00	0,00442
8028916	SNRPA	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A	1,70	0,00442
8088192	ERC2	ELKS/RAB6-interacting/CAST family member 2	0,60	0,00442
7921773	PVRL4	poliovirus receptor-related 4	0,57	0,00442
8025142	ARHGEF18 /// LOC10012857 3	Rho/Rac guanine nucleotide exchange factor (GEF) 18 /// hypothetical LOC100128573	1,64	0,00442
8114249	CXCL14	chemokine (C-X-C motif) ligand 14	0,53	0,00446
7951133	MAML2	mastermind-like 2 (Drosophila)	1,76	0,00451
8124775	DHX16	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 16	1,50	0,00451
8062557	PPP1R16B	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 16B	1,59	0,00453
8076826	C22orf34	chromosome 22 open reading frame 34	1,78	0,00453
8108472	PURA	purine-rich element binding protein A	1,56	0,00453
8019183	ACTG1	actin, gamma 1	1,61	0,00454
8005097	HS3ST3B1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O- sulfotransferase 3B1	1,70	0,00457
8061706	POFUT1	protein O-fucosyltransferase 1	1,65	0,00458
8107133	PAM	peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase	0,53	0,00459
8151238	ENST0000047 8498	ENST00000478498	0,58	0,00459
7994769	CORO1A	coronin, actin binding protein, 1A	1,50	0,00460

8012257	TP53	tumor protein p53	1,84	0,00462
8062123	MMP24	matrix metalloproteinase 24 (membrane-inserted)	0,61	0,00469
8118915	ZNF76	zinc finger protein 76 (expressed in testis)	1,62	0,00474
7945536	CEND1	cell cycle exit and neuronal differentiation 1	0,53	0,00482
7918794	AMPD1	adenosine monophosphate deaminase 1	0,59	0,00485
7945275	VPS26B	vacuolar protein sorting 26 homolog B (S. pombe)	1,56	0,00485
7950086	NUMA1	nuclear mitotic apparatus protein 1	1,63	0,00485
8043036	LOC1720	dihydrofolate reductase pseudogene	2,92	0,00485
7900710	KIAA0467 /// C1orf84	KIAA0467 /// chromosome 1 open reading frame 84	1,66	0,00491
7985039	ENST00000338857	ENST00000338857	0,44	0,00491
8065817	GSS	glutathione synthetase	1,75	0,00491
8071392	MED15	mediator complex subunit 15	1,72	0,00491
8071566	PPIL2	peptidylprolyl isomerase (cyclophilin)-like 2	1,62	0,00491
8075529	PISD /// C22orf30	phosphatidylserine decarboxylase /// chromosome 22 open reading frame 30	1,61	0,00491
8081358	ZBTB11 /// LOC100009676	zinc finger and BTB domain containing 11 /// hypothetical LOC100009676	1,61	0,00491
8128138	MDN1	MDN1, midasin homolog (yeast)	1,73	0,00491
8177011	ASMTL	acetylserotonin O-methyltransferase-like	1,56	0,00492
7921275	FCRL3	Fc receptor-like 3	2,08	0,00494
7921014	MEF2D	myocyte enhancer factor 2D	1,55	0,00498
7993359	NPIP /// PKD1P1 /// LOC642778 /// LOC10028833 2	nuclear pore complex interacting protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// nuclear pore complex-interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein FLJ00285-like	2,10	0,00498
8161114	GBA2 /// CREB3	glucosidase, beta (bile acid) 2 /// cAMP responsive element binding protein 3	1,61	0,00500
8070988	MCM3AP	minichromosome maintenance complex component 3 associated protein	1,71	0,00503
7915284	ENST000003384626	ENST000003384626	0,26	0,00503
7999431	PRM3	protamine 3	0,55	0,00511
8002266	CTF8	CTF8, chromosome transmission fidelity factor 8 homolog (S. cerevisiae)	1,49	0,00514
7975506	DCAF4	DDB1 and CUL4 associated factor 4	1,88	0,00514
8082408	SEC61A1	Sec61 alpha 1 subunit (S. cerevisiae)	1,62	0,00515
8090193	HEG1	HEG homolog 1 (zebrafish)	1,76	0,00515
7924733	PARP1	poly (ADP-ribose) polymerase 1	1,72	0,00522
8085716	SATB1	SATB homeobox 1	1,65	0,00522
8158918	GTF3C4 /// DDX31	general transcription factor IIIC, polypeptide 4, 90kDa /// DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 31	1,57	0,00522

8160849	ARID3C	AT rich interactive domain 3C (BRIGHT-like)	0,58	0,00522
7904314	TTF2	transcription termination factor, RNA polymerase II	1,64	0,00523
8131069	GPER	G protein-coupled estrogen receptor 1	0,60	0,00523
8040843	CAD	carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase, and dihydroorotase	1,57	0,00526
8063394	PTPN1	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	1,43	0,00528
8117435	BTN3A2	butyrophilin, subfamily 3, member A2	1,91	0,00528
8053214	AUP1	ancient ubiquitous protein 1	1,51	0,00529
8030881	PPP2R1A	protein phosphatase 2, regulatory subunit A, alpha	1,64	0,00534
8038213	HSD17B14	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 14	0,54	0,00534
7942232	NADSYN1	NAD synthetase 1	1,55	0,00534
8034700	C19orf57	chromosome 19 open reading frame 57	0,55	0,00534
8166925	MAOA	monoamine oxidase A	0,57	0,00538
8148962	OR4F3 /// OR4F16 /// OR4F29 /// OR4F21	olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 3 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 16 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 29 /// olfactory receptor, family 4, subfamily F, member 21	1,92	0,00539
7993349	NPIP /// PKD1P1 /// LOC642778 /// LOC10028833 2	nuclear pore complex interacting protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// nuclear pore complex-interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein FLJ00285-like	2,10	0,00541
7952046	MPZL2	myelin protein zero-like 2	0,54	0,00543
8028645	MED29	mediator complex subunit 29	1,50	0,00544
8162533	PTCH1	patched 1	1,92	0,00544
8164572	ASB6	ankyrin repeat and SOCS box-containing 6	1,65	0,00544
7903393	S1PR1	sphingosine-1-phosphate receptor 1	1,53	0,00545
7950372	ENST0000038 4186	ENST00000384186	0,54	0,00551
8025788	SMARCA4	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 4	1,55	0,00551
8044049	IL18RAP	interleukin 18 receptor accessory protein	0,43	0,00554
8167912	KLF8	Kruppel-like factor 8	1,78	0,00556
8010946	GEMIN4	gem (nuclear organelle) associated protein 4	1,60	0,00556
8137257	GIMAP5	GTPase, IMAP family member 5	1,80	0,00556
7925851	WDR37	WD repeat domain 37	1,53	0,00567
7996198	CCDC113	coiled-coil domain containing 113	0,60	0,00567
8139256	URGCP	upregulator of cell proliferation	1,95	0,00570
8043682	BC104424	BC104424	0,52	0,00578
8085714	ENST0000046	ENST00000465944	0,31	0,00578

	5944			
8077595	BRPF1	bromodomain and PHD finger containing, 1	1,60	0,00582
8121418	SMPD2	sphingomyelin phosphodiesterase 2, neutral membrane (neutral sphingomyelinase)	1,71	0,00582
8073522	SREBF2	sterol regulatory element binding transcription factor 2	1,84	0,00583
8106098	MAP1B	microtubule-associated protein 1B	0,54	0,00583
7913558	LUZP1	leucine zipper protein 1	1,50	0,00586
8177931	MUC21	mucin 21, cell surface associated	0,50	0,00587
7903753	GSTM2 /// GSTM4	glutathione S-transferase mu 2 (muscle) /// glutathione S-transferase mu 4	1,95	0,00591
7933290	BMS1P5 /// BMS1P1 /// AGAP10 /// AGAP9	BMS1 pseudogene 5 /// BMS1 pseudogene 1 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9	1,93	0,00591
7939465	HSD17B12	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 12	1,83	0,00591
7956401	SHMT2	serine hydroxymethyltransferase 2 (mitochondrial)	1,54	0,00591
8161017	SIT1	signaling threshold regulating transmembrane adaptor 1	1,78	0,00591
7974366	PTGER2	prostaglandin E receptor 2 (subtype EP2), 53kDa	1,71	0,00591
8105908	OCLN /// LOC647859	occludin /// occludin pseudogene	0,43	0,00592
7905058	LOC388692 /// LOC644634	hypothetical LOC388692 /// UPF0627 protein ENSP00000358171-like	1,72	0,00592
8058415	INO80D	INO80 complex subunit D	1,67	0,00592
8133690	MDH2	malate dehydrogenase 2, NAD (mitochondrial)	1,54	0,00592
8125295	ATF6B /// TNXB	activating transcription factor 6 beta /// tenascin XB	1,69	0,00594
7908459	CFH	complement factor H	1,92	0,00605
7936884	FAM53B	family with sequence similarity 53, member B	1,71	0,00605
8104378	PAPD7	PAP associated domain containing 7	1,65	0,00605
8122317	HEBP2	heme binding protein 2	1,68	0,00605
8165974	CLCN4	chloride channel 4	0,57	0,00605
8178727	ATF6B /// TNXB	activating transcription factor 6 beta /// tenascin XB	1,68	0,00605
7922414	GAS5 /// SNORD76	growth arrest-specific 5 (non-protein coding) /// small nucleolar RNA, C/D box 76	2,71	0,00609
8164665	RAPGEF1	Rap guanine nucleotide exchange factor (GEF) 1	1,72	0,00610
8093685	HTT	huntingtin	1,79	0,00614
8074806	PPM1F	protein phosphatase, Mg2+/Mn2+ dependent, 1F	1,61	0,00622

7993281	SNX29	sorting nexin 29	1,60	0,00624
8063174	ENST00000442886 /// ENST00000504759 /// ENST00000328749 /// GENSCAN0000025030	ENST00000442886 /// ENST00000504759 /// ENST00000328749 /// GENSCAN0000025030	0,35	0,00624
8106068	MCCC2 /// LOC100510706	methylcrotonoyl-CoA carboxylase 2 (beta) /// methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial-like	1,66	0,00624
8177601	MCCC2 /// LOC100510706	methylcrotonoyl-CoA carboxylase 2 (beta) /// methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial-like	1,66	0,00624
7915882	KIAA0494	KIAA0494	1,74	0,00624
7992474	TSC2	tuberous sclerosis 2	1,65	0,00628
7950810	SYTL2	synaptotagmin-like 2	2,01	0,00631
8022428	POTED /// POTEB /// POTEC /// LOC100288966	POTE ankyrin domain family, member D /// POTE ankyrin domain family, member B /// POTE ankyrin domain family, member C /// POTE ankyrin domain family member D-like	0,66	0,00631
8026272	IL27RA /// RLN3	interleukin 27 receptor, alpha /// relaxin 3	1,52	0,00631
8054945	BIN1	bridging integrator 1	1,70	0,00631
8110894	NSUN2	NOP2/Sun domain family, member 2	1,57	0,00631
7916862	WLS	wntless homolog (Drosophila)	1,78	0,00632
8048120	ATIC	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	1,70	0,00632
8071547	UBE2L3	ubiquitin-conjugating enzyme E2L 3	1,48	0,00632
8108558	SLC35A4	solute carrier family 35, member A4	1,63	0,00632
8117563	ENST00000496256	ENST00000496256	0,60	0,00632
8145201	KIAA1967	KIAA1967	1,73	0,00632
8163825	TRAF1	TNF receptor-associated factor 1	1,67	0,00632
7899504	GMEB1	glucocorticoid modulatory element binding protein 1	1,66	0,00633
8076792	CERK	ceramide kinase	1,45	0,00639
7898227	PLEKHM2	pleckstrin homology domain containing, family M (with RUN domain) member 2	1,54	0,00642
7937900	STIM1	stromal interaction molecule 1	1,61	0,00642
7980327	ANGEL1	angel homolog 1 (Drosophila)	1,54	0,00642
7987405	RASGRP1	RAS guanyl releasing protein 1 (calcium and DAG-regulated)	1,74	0,00642
8013696	KIAA0100	KIAA0100	1,59	0,00642
8052803	AAK1	AP2 associated kinase 1	1,85	0,00642
8067563	DIDO1	death inducer-obliterator 1	1,58	0,00642
8109528	CYFIP2	cytoplasmic FMR1 interacting protein 2	1,70	0,00642
8178377	DHX16	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide	1,48	0,00642

		16		
8074958	ENST00000491172	ENST00000491172	0,44	0,00645
8175900	ARHGAP4	Rho GTPase activating protein 4	1,70	0,00645
7932453	NEBL	nebulette	0,51	0,00647
7985605	ZNF592	zinc finger protein 592	1,55	0,00647
8017019	MTMR4	myotubularin related protein 4	1,60	0,00647
8024170	HMHA1	histocompatibility (minor) HA-1	1,69	0,00647
8099340	WDR1	WD repeat domain 1	1,53	0,00647
8115487	C5orf40	chromosome 5 open reading frame 40	0,64	0,00647
8134470	TRRAP	transformation/transcription domain-associated protein	1,75	0,00647
8146403	SNTG1	syntrophin, gamma 1	0,60	0,00647
8175195	HS6ST2	heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 2	0,58	0,00647
8045425	R3HDM1	R3H domain containing 1	1,79	0,00658
8115783	STK10	serine/threonine kinase 10	1,65	0,00659
7982326	KLF13	Kruppel-like factor 13	1,53	0,00661
7998510	CLCN7	chloride channel 7	1,74	0,00662
8052925	TEX261	testis expressed 261	1,69	0,00662
8108478	C5orf32	chromosome 5 open reading frame 32	0,60	0,00662
8149574	CSGALNACT1	chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1	0,62	0,00663
8084889	ENST00000492442	ENST00000492442	0,54	0,00663
7973732	KHNYN	KH and NYN domain containing	1,57	0,00667
7987279	GOLGA8A /// GOLGA8B	golgin A8 family, member A /// golgin A8 family, member B	1,94	0,00667
8015955	ATXN7L3	ataxin 7-like 3	1,70	0,00667
7937802	CD81	CD81 molecule	1,73	0,00669
7998983	NLRC3	NLR family, CARD domain containing 3	1,59	0,00670
7960850	SLC2A14	solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 14	0,64	0,00676
8147447	PTDSS1	phosphatidylserine synthase 1	1,54	0,00681
7992692	SRRM2	serine/arginine repetitive matrix 2	2,06	0,00687
8049088	COPS7B	COP9 constitutive photomorphogenic homolog subunit 7B (Arabidopsis)	1,64	0,00688
7925130	TARBP1	TAR (HIV-1) RNA binding protein 1	1,69	0,00688
7933772	ANK3	ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	1,83	0,00690
8013191	FLII	flightless I homolog (Drosophila)	1,62	0,00690
7995492	ADCY7	adenylate cyclase 7	1,69	0,00692
7932744	ARMC4	armadillo repeat containing 4	0,56	0,00693
8112709	POC5	POC5 centriolar protein homolog (Chlamydomonas)	1,66	0,00693
8029029	HNRNPUL1	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like 1	1,57	0,00704
8142100	ATXN7L1	ataxin 7-like 1	1,93	0,00707
8005726	KCNJ18 /// KCNJ12	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 18 /// potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 12	0,57	0,00709
8020630	TTC39C	tetratricopeptide repeat domain 39C	1,68	0,00709

7911096	EFCAB2	EF-hand calcium binding domain 2	0,56	0,00711
8009844	LLGL2	lethal giant larvae homolog 2 (Drosophila)	1,56	0,00712
8051204	SUPT7L /// GPN1	suppressor of Ty 7 (<i>S. cerevisiae</i>)-like /// GPN-loop GTPase 1	1,59	0,00712
8164177	MAPKAP1	mitogen-activated protein kinase associated protein 1	1,49	0,00712
8159992	ERMP1	endoplasmic reticulum metalloproteinase 1	1,73	0,00714
7981051	SERPINA10	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsin), member 10	0,58	0,00714
8064100	PPDPF	pancreatic progenitor cell differentiation and proliferation factor homolog (zebrafish)	2,11	0,00714
8109438	LARP1	La ribonucleoprotein domain family, member 1	1,76	0,00714
8154635	MTAP /// CDKN2B-AS	methylthioadenosine phosphorylase /// CDKN2B antisense RNA (non-protein coding)	1,60	0,00714
7955694	IGFBP6	insulin-like growth factor binding protein 6	0,58	0,00718
7990165	PARP6	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 6	1,57	0,00718
8042574	MGC72080	MGC72080 pseudogene	1,57	0,00718
8044773	MARCO	macrophage receptor with collagenous structure	0,55	0,00718
8084832	PYDC2	pyrin domain containing 2	0,58	0,00718
8108080	PHF15	PHD finger protein 15	1,59	0,00718
7948839	NXF1	nuclear RNA export factor 1	1,56	0,00718
8014248	SLFN13	schlafen family member 13	2,00	0,00718
8069178	ADARB1	adenosine deaminase, RNA-specific, B1	1,79	0,00718
8157074	FKTN	fukutin	1,68	0,00718
7979437	C14orf149	chromosome 14 open reading frame 149	1,70	0,00726
8040753	TMEM214	transmembrane protein 214	1,64	0,00726
8146687	ADHFE1	alcohol dehydrogenase, iron containing, 1	1,94	0,00727
7917649	TGFBR3	transforming growth factor, beta receptor III	2,10	0,00728
7944223	MLL	myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (trithorax homolog, <i>Drosophila</i>)	1,80	0,00728
8025741	DNM2 /// QTRT1	dynamamin 2 /// queuine tRNA- ribosyltransferase 1	1,56	0,00728
8118682	PHF1	PHD finger protein 1	1,71	0,00729
7940372	TMEM109	transmembrane protein 109	1,67	0,00730
7963491	KRT1	keratin 1	0,53	0,00731
8043502	ENST0000049 3397	ENST00000493397	2,84	0,00731
8085772	ENST0000038 4080	ENST00000384080	0,65	0,00731
8029856	GRLF1	glucocorticoid receptor DNA binding factor 1	1,65	0,00741
8031311	KIR2DS2 /// KIR3DL1 /// KIR3DS1 /// KIR2DL5A ///	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 1 ///	2,27	0,00745

	KIR2DL4	killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 4		
8039896	KIR2DL1 /// KIR2DS2 /// KIR2DS4 /// KIR2DS1 /// KIR2DL3 /// KIR2DS5 /// KIR3DL1 /// KIR2DL5A	killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 2 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 4 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 3 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, short cytoplasmic tail, 5 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 1 /// killer cell immunoglobulin-like receptor, two domains, long cytoplasmic tail, 5A	2,26	0,00753
7982723	IVD	isovaleryl-CoA dehydrogenase	1,56	0,00754
8066303	CHD6	chromodomain helicase DNA binding protein 6	1,72	0,00754
7924230	FAM108A1 /// FAM108A4 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A4 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	1,61	0,00754
7945371	IFITM3	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)	0,34	0,00754
7977749	METTL3	methyltransferase like 3	1,67	0,00754
7997633	USP10	ubiquitin specific peptidase 10	1,59	0,00754
8113784	ENST00000490423 /// GENSCAN0000040316	ENST00000490423 /// GENSCAN0000040316	0,55	0,00754
7923917	FAIM3	Fas apoptotic inhibitory molecule 3	1,88	0,00756
8026638	MYO9B	myosin IXB	1,63	0,00756
8065444	ACSS1	acyl-CoA synthetase short-chain family member 1	1,55	0,00756
8077211	ATG4B	ATG4 autophagy related 4 homolog B (S. cerevisiae)	1,48	0,00756
7910752	MTR	5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase	1,64	0,00758
7953111	ITFG2 /// FKBP4	integrin alpha FG-GAP repeat containing 2 /// FK506 binding protein 4, 59kDa	1,52	0,00758
8027074	UPF1	UPF1 regulator of nonsense transcripts homolog (yeast)	1,63	0,00758
8060675	CDC25B	cell division cycle 25 homolog B (S. pombe)	2,02	0,00758

8098103	FNIP2	folliculin interacting protein 2	1,83	0,00758
8135162	PRKRIP1	PRKR interacting protein 1 (IL11 inducible)	1,47	0,00758
8170850	EMD	emerin	1,60	0,00758
8089835	FSTL1 /// MIR198	follistatin-like 1 /// microRNA 198	0,58	0,00760
8094501	STIM2	stromal interaction molecule 2	1,55	0,00760
7935474	MMS19	MMS19 nucleotide excision repair homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	1,56	0,00761
8075063	HPS4	Hermansky-Pudlak syndrome 4	1,61	0,00762
8075493	PATZ1	POZ (BTB) and AT hook containing zinc finger 1	1,68	0,00766
8145636	HMBOX1	homeobox containing 1	1,67	0,00766
7945377	SIGIRR	single immunoglobulin and toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain	1,49	0,00769
7911289	ZNF672	zinc finger protein 672	1,54	0,00771
7902452	AK5	adenylate kinase 5	1,81	0,00772
7901466	FAM159A	family with sequence similarity 159, member A	1,71	0,00773
7911539	CCNL2	cyclin L2	1,68	0,00773
7938758	SAA1	serum amyloid A1	0,51	0,00773
7941797	ADRBK1	adrenergic, beta, receptor kinase 1	1,58	0,00773
7942073	IGHMBP2	immunoglobulin mu binding protein 2	1,47	0,00773
7955865	HOXC9	homeobox C9	0,61	0,00773
7966938	GCN1L1	GCN1 general control of amino-acid synthesis 1-like 1 (yeast)	1,74	0,00773
7990400	ULK3	unc-51-like kinase 3 (<i>C. elegans</i>)	1,45	0,00773
7995332	ENST00000516580	ENST00000516580	0,58	0,00773
8003263	ZCCHC14	zinc finger, CCHC domain containing 14	1,79	0,00773
8013509	C17orf103	chromosome 17 open reading frame 103	1,66	0,00773
8019807	USP14	ubiquitin specific peptidase 14 (tRNA-guanine transglycosylase)	1,70	0,00773
8033479	ELAVL1	ELAV (embryonic lethal, abnormal vision, <i>Drosophila</i>)-like 1 (Hu antigen R)	1,59	0,00773
8053890	STARD7	StAR-related lipid transfer (START) domain containing 7	1,51	0,00773
8153021	ST3GAL1	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 1	1,65	0,00773
8165881	VCX3A /// VCX2 /// VCX3B /// VCX	variable charge, X-linked 3A /// variable charge, X-linked 2 /// variable charge, X-linked 3B /// variable charge, X-linked	0,55	0,00773
8139592	HUS1	HUS1 checkpoint homolog (<i>S. pombe</i>)	1,62	0,00775
8011640	MYBBP1A /// SPNS2	MYB binding protein (P160) 1a /// spinster homolog 2 (<i>Drosophila</i>)	1,67	0,00775
7929634	ZDHHC16	zinc finger, DHHC-type containing 16	1,55	0,00776
7941863	ENST00000364814	ENST00000364814	0,60	0,00776
8174891	ENST00000384922	ENST00000384922	0,53	0,00776

7995342	ENST00000460738	ENST00000460738	0,51	0,00777
7976000	ADCK1	aarF domain containing kinase 1	1,69	0,00779
8030035	GRWD1	glutamate-rich WD repeat containing 1	1,42	0,00779
8046306	GORASP2	golgi reassembly stacking protein 2, 55kDa	1,60	0,00786
7906786	FCRLA	Fc receptor-like A	1,82	0,00789
7914530	BSDC1	BSD domain containing 1	1,53	0,00789
8158725	ABL1	c-abl oncogene 1, non-receptor tyrosine kinase	1,57	0,00792
8015412	JUP	junction plakoglobin	0,57	0,00793
7906056	MSTO1 /// MSTO2P	misato homolog 1 (Drosophila) /// misato homolog 2 pseudogene	2,24	0,00794
7976443	IFI27	interferon, alpha-inducible protein 27	0,42	0,00794
8074647	PI4KA	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha	1,70	0,00794
7952601	ETS1	v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1 (avian)	1,67	0,00798
8034416	RPL10	ribosomal protein L10	1,64	0,00798
7967473	EIF2B1	eukaryotic translation initiation factor 2B, subunit 1 alpha, 26kDa	1,54	0,00802
8039909	CCNL2	cyclin L2	1,71	0,00802
8141595	GIGYF1	GRB10 interacting GYF protein 1	1,68	0,00802
7939642	CREB3L1	cAMP responsive element binding protein 3-like 1	0,58	0,00803
8083324	TSC22D2	TSC22 domain family, member 2	1,52	0,00805
7954697	ENST00000363518	ENST00000363518	0,50	0,00815
8020220	TUBB6	tubulin, beta 6	0,64	0,00815
7946446	NRIP3	nuclear receptor interacting protein 3	0,61	0,00820
8044640	PGM5 /// PGM5P2	phosphoglucomutase 5 /// phosphoglucomutase 5 pseudogene 2	0,56	0,00820
7966488	C12orf51	chromosome 12 open reading frame 51	1,65	0,00826
8030277	CD37	CD37 molecule	1,62	0,00827
8026610	SIN3B	SIN3 homolog B, transcription regulator (yeast)	1,59	0,00829
7924636	TMEM63A	transmembrane protein 63A	1,88	0,00832
8086784	C3orf75	chromosome 3 open reading frame 75	1,72	0,00832
8168026	ENST00000422565 /// GENSCAN0000018293	ENST00000422565 /// GENSCAN0000018293	0,40	0,00832
7926638	ARMC3	armadillo repeat containing 3	0,52	0,00835
8011141	PRPF8	PRP8 pre-mRNA processing factor 8 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	1,99	0,00835
8032418	AP3D1	adaptor-related protein complex 3, delta 1 subunit	1,57	0,00837
7998033	TCF25	transcription factor 25 (basic helix-loop-helix)	1,43	0,00843
7935780	SEC31B	SEC31 homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	1,61	0,00848
8126646	MRPS18A /// RSPH9	mitochondrial ribosomal protein S18A /// radial spoke head 9 homolog	1,50	0,00849

		(Chlamydomonas)		
8068902	RRP1B	ribosomal RNA processing 1 homolog B (S. cerevisiae)	1,65	0,00854
8006715	TADA2A	transcriptional adaptor 2A	1,59	0,00855
8053406	RETSAT	retinol saturase (all-trans-retinol 13,14-reductase)	1,53	0,00857
8166509	FAM48B1 /// FAM48B2	family with sequence similarity 48, member B1 /// family with sequence similarity 48, member B2	0,27	0,00860
8171844	FAM48B1 /// FAM48B2	family with sequence similarity 48, member B1 /// family with sequence similarity 48, member B2	0,27	0,00860
8036840	AKT2	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2	1,57	0,00862
8153903	RPL8	ribosomal protein L8	1,48	0,00862
7911941	CHD5	chromodomain helicase DNA binding protein 5	0,62	0,00867
7998538	PTX4	pentraxin 4, long	0,59	0,00872
8055104	SAP130	Sin3A-associated protein, 130kDa	1,55	0,00872
8104621	GUSBP3 /// GUSBP1 /// GUSBP4	glucuronidase, beta pseudogene 3 /// glucuronidase, beta pseudogene 1 /// glucuronidase, beta pseudogene 4	1,97	0,00876
8078272	NR1D2	nuclear receptor subfamily 1, group D, member 2	1,74	0,00877
7905047	FCGR1A /// FCGR1B /// FCGR1C	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor (CD64) /// Fc fragment of IgG, high affinity Ib, receptor (CD64) /// Fc fragment of IgG, high affinity Ic, receptor (CD64)	0,30	0,00877
7950036	FGF3	fibroblast growth factor 3	0,57	0,00877
8014391	CCL3 /// CCL3L1 /// CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	0,65	0,00877
8014414	CCL3 /// CCL3L1 /// CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	0,65	0,00877
8019731	CCL3 /// CCL3L1 /// CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	0,65	0,00877
8032137	C19orf6	chromosome 19 open reading frame 6	1,68	0,00877
8082422	EEFSEC	eukaryotic elongation factor, selenocysteine-tRNA-specific	1,42	0,00877
8123524	EXOC2	exocyst complex component 2	1,70	0,00877
8141363	TRIM4	tripartite motif-containing 4	1,68	0,00877
8115122	CAMK2A	calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alpha	0,62	0,00879
8176026	FLNA	filamin A, alpha	2,14	0,00879
7923547	CHI3L1	chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)	1,92	0,00880
8002904	ADAT1	adenosine deaminase, tRNA-specific 1	1,48	0,00880
8107706	LMNB1	lamin B1	0,60	0,00880

8133275	POM121 /// POM121C /// LOC10050831 7 /// LOC10029265 3	POM121 membrane glycoprotein /// POM121 membrane glycoprotein C /// nuclear envelope pore membrane protein POM 121-like /// nuclear envelope pore membrane protein POM 121-like	1,66	0,00880
8037037	ATP5SL	ATP5S-like	1,49	0,00882
7916781	ENST0000045 9767	ENST00000459767	0,57	0,00884
7984245	OSTBETA /// RASL12	organic solute transporter beta /// RAS- like, family 12	0,53	0,00885
8029147	ARHGEF1	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 1	1,77	0,00885
8070826	ITGB2	integrin, beta 2 (complement component 3 receptor 3 and 4 subunit)	1,71	0,00885
8132819	IKZF1	IKAROS family zinc finger 1 (Ikaros)	1,72	0,00885
8142102	ATXN7L1	ataxin 7-like 1	1,81	0,00886
8076137	SUN2	Sad1 and UNC84 domain containing 2	1,69	0,00889
8074780	YPEL1 /// PPIL2	yippee-like 1 (Drosophila) /// peptidylprolyl isomerase (cyclophilin)-like 2	1,60	0,00889
8069399	DIP2A	DIP2 disco-interacting protein 2 homolog A (Drosophila)	1,69	0,00889
7981494	AKT1	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	1,45	0,00889
8098060	RXFP1	relaxin/insulin-like family peptide receptor 1	0,63	0,00890
8171418	PIGA	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class A	1,67	0,00894
7946211	RRP8	ribosomal RNA processing 8, methyltransferase, homolog (yeast)	1,89	0,00896
8090630	TMCC1	transmembrane and coiled-coil domain family 1	1,83	0,00898
7946742	CYP2R1	cytochrome P450, family 2, subfamily R, polypeptide 1	1,74	0,00899
7994928	PHKG2	phosphorylase kinase, gamma 2 (testis)	1,44	0,00899
8054614	ANAPC1 /// LOC285074	anaphase promoting complex subunit 1 /// anaphase promoting complex subunit 1 pseudogene	1,69	0,00899
8073430	ACO2	aconitase 2, mitochondrial	1,56	0,00899
7938133	DNHD1	dynein heavy chain domain 1	1,92	0,00901
8144625	BLK	B lymphoid tyrosine kinase	1,67	0,00901
7904086	LRIG2	leucine-rich repeats and immunoglobulin- like domains 2	2,08	0,00901
7934653	POLR3A	polymerase (RNA) III (DNA directed) polypeptide A, 155kDa	1,63	0,00901
8158112	CDK9	cyclin-dependent kinase 9	1,51	0,00901
8140196	STAG3L1 /// STAG3L2 /// STAG3L3	stromal antigen 3-like 1 /// stromal antigen 3-like 2 /// stromal antigen 3-like 3	1,95	0,00905
7955450	LETMD1	LETM1 domain containing 1	1,45	0,00909

8056343	COBLL1	COBL-like 1	1,90	0,00911
8150014	INTS9	integrator complex subunit 9	1,58	0,00911
8080013	MAPKAPK3	mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3	1,50	0,00912
8146332	ENST00000492926	ENST00000492926	0,44	0,00916
8001147	RAB43	RAB43, member RAS oncogene family	1,59	0,00919
8054377	FHL2	four and a half LIM domains 2	0,60	0,00919
8101376	SEC31A /// LOC100499177	SEC31 homolog A (<i>S. cerevisiae</i>) /// hypothetical LOC100499177	1,61	0,00919
8075910	RAC2	ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 (rho family, small GTP binding protein Rac2)	1,52	0,00925
8073943	ZBED4	zinc finger, BED-type containing 4	1,50	0,00925
7968872	DNAJC15	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 15	2,05	0,00931
7984364	SMAD3	SMAD family member 3	1,56	0,00931
7943984	ZBTB16	zinc finger and BTB domain containing 16	1,90	0,00931
8036525	MAP4K1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1	1,67	0,00931
7912257	CLSTN1	calsyntenin 1	1,68	0,00937
8175570	ENST00000363008	ENST00000363008	0,61	0,00943
8083061	ENST00000484754	ENST00000484754	2,07	0,00953
8154727	LOC138412	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 6, pseudogene	1,59	0,00953
7984704	NEO1	neogenin 1	1,63	0,00957
8096528	PDHA2	pyruvate dehydrogenase (lipoamide) alpha 2	0,53	0,00957
8138920	ENST00000464856 /// ENST00000477113 /// ENST00000479479 /// ENST00000486073 /// ENST00000480490	ENST00000464856 /// ENST00000477113 /// ENST00000479479 /// ENST00000486073 /// ENST00000480490	0,64	0,00964
8007462	NBR2	neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding)	1,58	0,00966
8016521	ENST00000459483	ENST00000459483	0,52	0,00966
8072494	SFI1	Sfi1 homolog, spindle assembly associated (yeast)	1,52	0,00966
8088864	ENST00000493612	ENST00000493612	0,61	0,00967
8038086	RPL18	ribosomal protein L18	1,79	0,00969

8054978	ERCC3	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 3 (xeroderma pigmentosum group B complementing)	1,56	0,00971
8151745	ENST00000483965	ENST00000483965	0,55	0,00975
8103485	NAF1	nuclear assembly factor 1 homolog (S. cerevisiae)	1,62	0,00976
7978801	MDGA2	MAM domain containing glycosylphosphatidylinositol anchor 2	0,59	0,00976
8006592	ENST00000411323	ENST00000411323	0,49	0,00976
8035050	RASAL3	RAS protein activator like 3	1,88	0,00976
8045182	PTPN18	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 18 (brain-derived)	1,51	0,00976
8154211	ENST00000495057	ENST00000495057	3,00	0,00976
8175444	FGF13	fibroblast growth factor 13	0,63	0,00976
7939676	ATG13	ATG13 autophagy related 13 homolog (S. cerevisiae)	1,53	0,00996
8170998	F8A1 /// F8A2 /// F8A3	coagulation factor VIII-associated (intronic transcript) 1 /// coagulation factor VIII-associated (intronic transcript) 2 /// coagulation factor VIII-associated (intronic transcript) 3	1,55	0,00996

Таблица А.8

Гены с отличиями в уровне экспрессии у больных ТРБА и легкой БА
на Визите 4

ID	Символ гена	Название гена	FC	Adj.P
8165646	NC_001807	NC_001807	0,33	<0,00001
8016285	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC646043 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// nucleosome-remodeling factor subunit BPTF-like /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,31	<0,00001
8016300	ARL17A /// ARL17B /// NBR2 /// LOC10029434 1	ADP-ribosylation factor-like 17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B /// neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like protein 17-like	0,31	<0,00001
8104139	LOC389834	ankyrin repeat domain 57 pseudogene	0,28	0,00001
7933772	ANK3	ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	0,34	0,00002
8007794	NBR2 /// ARL17A ///	neighbor of BRCA1 gene 2 (non-protein coding) /// ADP-ribosylation factor-like	0,33	0,00002

	ARL17B	17A /// ADP-ribosylation factor-like 17B		
8078442	CCR4	chemokine (C-C motif) receptor 4	0,39	0,00002
8170834	TKTL1	transketolase-like 1	2,40	0,00002
7987145	FMN1	formin 1	0,22	0,00002
8073578	C22orf32	chromosome 22 open reading frame 32	0,44	0,00002
8055183	SMPD4	sphingomyelin phosphodiesterase 4, neutral membrane (neutral sphingomyelinase-3)	0,41	0,00002
8076826	C22orf34	chromosome 22 open reading frame 34	0,40	0,00005
8119223	FLJ45825	hypothetical protein LOC646888	0,18	0,00008
8112376	CENPK	centromere protein K	0,23	0,00008
8071044	MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// TEKT4P1	MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,40	0,00010
8062927	PI3	peptidase inhibitor 3, skin-derived	3,31	0,00014
8069399	DIP2A	DIP2 disco-interacting protein 2 homolog A (Drosophila)	0,43	0,00019
8071051	FLJ44253 /// MAFIP /// LOC10013228 8 /// LOC10023315 6 /// TEKT4P1	hypothetical gene supported by AK096952; AK126241; BC068588 /// MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,41	0,00019
7953200	CCND2	cyclin D2	0,51	0,00022
7918457	KCNA3	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 3	0,39	0,00024
8163825	TRAF1	TNF receptor-associated factor 1	0,47	0,00026
7974366	PTGER2	prostaglandin E receptor 2 (subtype EP2), 53kDa	0,46	0,00034
8020630	TTC39C	tetratricopeptide repeat domain 39C	0,46	0,00034
8084717	ST6GAL1	ST6 beta-galactosamide alpha-2,6-sialyltransferase 1	0,48	0,00035
8009243	C17orf60	chromosome 17 open reading frame 60	2,06	0,00037
8140709	KIAA1324L	KIAA1324-like	0,28	0,00039
7921637	CD84	CD84 molecule	0,41	0,00040
7980327	ANGEL1	angel homolog 1 (Drosophila)	0,54	0,00040
7994541	LAT /// SPNS1	linker for activation of T cells /// spinster homolog 1 (Drosophila)	0,50	0,00040
8005097	HS3ST3B1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 3B1	0,48	0,00040
8094936	LOC280665 /// CNCA1	anti-CNG alpha 1 cation channel translation product-like /// cyclic nucleotide gated channel alpha 1	2,56	0,00040
7940824	NAA40	N(alpha)-acetyltransferase 40, NatD catalytic subunit, homolog (S. cerevisiae)	0,45	0,00040
8009693	TMEM104	transmembrane protein 104	0,60	0,00040
7948332	LPXN	leupaxin	0,51	0,00041
7925876	PFKP	phosphofructokinase, platelet	0,45	0,00043
8074748	PI4KA ///	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic,	0,54	0,00044

	PI4KAP2 /// PI4KAP1	alpha /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 2 /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 1		
7962516	SLC38A1	solute carrier family 38, member 1	0,48	0,00048
8048340	RQCD1	RCD1 required for cell differentiation1 homolog (<i>S. pombe</i>)	0,48	0,00048
8062286	C20orf4	chromosome 20 open reading frame 4	0,53	0,00048
8100179	NFXL1	nuclear transcription factor, X-box binding-like 1	2,52	0,00048
8150165	FUT10	fucosyltransferase 10 (alpha (1,3) fucosyltransferase)	0,52	0,00050
8170187	CD40LG	CD40 ligand	0,39	0,00052
7920594	PYGO2	pygopus homolog 2 (<i>Drosophila</i>)	0,53	0,00054
8045587	ACVR2A	activin A receptor, type IIA	0,42	0,00062
7940717	SLC3A2	solute carrier family 3 (activators of dibasic and neutral amino acid transport), member 2	0,55	0,00063
7967685	STX2	syntaxin 2	0,48	0,00065
8159992	ERMP1	endoplasmic reticulum metalloproteinase 1	0,47	0,00070
7926105	GATA3	GATA binding protein 3	0,52	0,00071
7915363	SCMH1	sex comb on midleg homolog 1 (<i>Drosophila</i>)	0,48	0,00076
7939559	TSPAN18	tetraspanin 18	0,42	0,00076
7955865	HOXC9	homeobox C9	1,97	0,00076
8142912	TMEM209	transmembrane protein 209	0,46	0,00076
8135224	NFE4	transcription factor NF-E4	2,29	0,00078
8154574	KIAA1797	KIAA1797	0,51	0,00082
7972003	KLF12	Kruppel-like factor 12	0,44	0,00083
7999634	LOC399491 /// NPIP /// PKD1P1 /// LOC642778 /// LOC10028833 2	GPS, PLAT and transmembrane domain- containing protein /// nuclear pore complex interacting protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// nuclear pore complex- interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain- containing protein FLJ00285-like	0,39	0,00087
8110090	SFXN1	sideroflexin 1	0,51	0,00087
7898939	NIPAL3	NIPA-like domain containing 3	0,47	0,00089
8154916	GALT	galactose-1-phosphate uridylyltransferase	0,49	0,00094
7962058	TMTC1	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 1	3,47	0,00094
8022557	ENST0000036 2496	ENST00000362496	0,35	0,00094
8047078	MFS6	major facilitator superfamily domain containing 6	0,54	0,00094
8093950	S100P	S100 calcium binding protein P	2,55	0,00094
8171136	CRLF2 /// P2RY8	cytokine receptor-like factor 2 /// purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8	0,55	0,00094
8177026	CRLF2 ///	cytokine receptor-like factor 2 ///	0,55	0,00094

	P2RY8	purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8		
8005157	PIGL	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class L	0,48	0,00095
8068788	UBASH3A	ubiquitin associated and SH3 domain containing A	0,46	0,00095
8040365	TRIB2	tribbles homolog 2 (Drosophila)	0,55	0,00097
8048432	CYP27A1	cytochrome P450, family 27, subfamily A, polypeptide 1	2,54	0,00103
7934215	SPOCK2	sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan (testican) 2	0,50	0,00113
7903334	CDC14A	CDC14 cell division cycle 14 homolog A (S. cerevisiae)	0,52	0,00119
8097098	USP53	ubiquitin specific peptidase 53	0,32	0,00124
8123364	CCR6	chemokine (C-C motif) receptor 6	0,48	0,00124
7937802	CD81	CD81 molecule	0,50	0,00124
8015955	ATXN7L3	ataxin 7-like 3	0,51	0,00124
8164596	C9orf78	chromosome 9 open reading frame 78	3,73	0,00125
8036525	MAP4K1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1	0,50	0,00129
8082408	SEC61A1	Sec61 alpha 1 subunit (S. cerevisiae)	0,55	0,00132
8043725	ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	0,46	0,00136
7921367	SPTA1	spectrin, alpha, erythrocytic 1 (elliptocytosis 2)	2,09	0,00137
7984364	SMAD3	SMAD family member 3	0,55	0,00137
8141829	POLR2J3 /// POLR2J2 /// UPK3BL /// POLR2J4	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J3 /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J2 /// uroplakin 3B-like /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J4, pseudogene	0,53	0,00137
7905754	ATP8B2	ATPase, class I, type 8B, member 2	0,50	0,00143
7916669	DOCK7	dedicator of cytokinesis 7	0,51	0,00143
7923662	PIK3C2B	phosphoinositide-3-kinase, class 2, beta polypeptide	0,46	0,00143
7940391	CD6	CD6 molecule	0,55	0,00143
7940409	CD5	CD5 molecule	0,46	0,00143
7997982	CDK10	cyclin-dependent kinase 10	0,50	0,00143
8081214	GPR15	G protein-coupled receptor 15	0,27	0,00143
8081710	SIDT1	SID1 transmembrane family, member 1	0,54	0,00143
7897378	PER3 /// UTS2	period homolog 3 (Drosophila) /// urotensin 2	0,59	0,00145
7917433	ODF2L	outer dense fiber of sperm tails 2-like	0,38	0,00145
8074577	PI4KAP2 /// PI4KAP1	phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 2 /// phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha pseudogene 1	0,57	0,00145
8079993	CYB561D2 /// NPRL2	cytochrome b-561 domain containing 2 /// nitrogen permease regulator-like 2 (S. cerevisiae)	0,61	0,00146
8142096	ATXN7L1	ataxin 7-like 1	0,54	0,00147

8127051	TRAM2	translocation associated membrane protein 2	0,53	0,00158
7985662	PDE8A	phosphodiesterase 8A	0,53	0,00164
8063115	MMP9	matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92kDa gelatinase, 92kDa type IV collagenase)	2,69	0,00165
8129649	C6orf192	chromosome 6 open reading frame 192	0,34	0,00172
7945349	BET1L	blocked early in transport 1 homolog (S. cerevisiae)-like	0,46	0,00173
8167930	FAAH2	fatty acid amide hydrolase 2	0,43	0,00173
8107044	ERAP2	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	0,39	0,00176
7921652	SLAMF1	signaling lymphocytic activation molecule family member 1	0,46	0,00178
7929383	TMEM20	transmembrane protein 20	0,57	0,00178
8014925	MED24	mediator complex subunit 24	0,52	0,00180
7935270	BLNK	B-cell linker	0,50	0,00186
7944049	SIDT2	SID1 transmembrane family, member 2	0,51	0,00186
7948696	MTA2	metastasis associated 1 family, member 2	0,61	0,00186
8088680	C3orf64	chromosome 3 open reading frame 64	0,53	0,00196
8112428	CD180	CD180 molecule	0,39	0,00196
8025697	ILF3	interleukin enhancer binding factor 3, 90kDa	0,50	0,00196
8048171	PK155	hypothetical protein DKFZp434H1419	0,51	0,00196
8059279	EPHA4	EPH receptor A4	0,54	0,00197
7920100	THEM5	thioesterase superfamily member 5	1,78	0,00209
8138613	OSBPL3	oxysterol binding protein-like 3	0,50	0,00210
7966052	CRY1	cryptochrome 1 (photolyase-like)	0,52	0,00216
8085914	SLC4A7	solute carrier family 4, sodium bicarbonate cotransporter, member 7	0,48	0,00216
8105908	OCLN /// LOC647859	occludin /// occludin pseudogene	0,37	0,00216
8112615	ENC1	ectodermal-neural cortex 1 (with BTB-like domain)	1,89	0,00216
8170443	MTMR1	myotubularin related protein 1	0,62	0,00216
8070328	C21orf104	chromosome 21 open reading frame 104	1,91	0,00224
7934906	ACTA2	actin, alpha 2, smooth muscle, aorta	2,04	0,00228
7944152	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha	0,60	0,00229
7909877	MOSC1	MOCO sulphurase C-terminal domain containing 1	1,82	0,00241
8053666	ENST0000051 6586	ENST00000516586	2,44	0,00244
7956908	ENST0000045 8887	ENST00000458887	0,48	0,00247
8145136	PPP3CC	protein phosphatase 3, catalytic subunit, gamma isozyme	0,56	0,00247
7924760	ITPKB	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B	0,57	0,00247
7935968	LDB1	LIM domain binding 1	0,57	0,00254
7927732	ARID5B	AT rich interactive domain 5B (MRF1-like)	0,52	0,00259
7986394	LRRC28	leucine rich repeat containing 28	0,57	0,00259
7987405	RASGRP1	RAS guanyl releasing protein 1 (calcium	0,52	0,00259

		and DAG-regulated)		
8014391	CCL3 /// CCL3L1 /// CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	1,70	0,00259
8014414	CCL3 /// CCL3L1 /// CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	1,70	0,00259
8019731	CCL3 /// CCL3L1 /// CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1 /// chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	1,70	0,00259
8046695	ITGA4 /// CERKL	integrin, alpha 4 (antigen CD49D, alpha 4 subunit of VLA-4 receptor) /// ceramide kinase-like	0,46	0,00259
8058614	LANCL1	LanC lantibiotic synthetase component C-like 1 (bacterial)	0,48	0,00259
8089062	CLDND1 /// CPOX	claudin domain containing 1 /// coproporphyrinogen oxidase	0,54	0,00259
8132218	BBS9	Bardet-Biedl syndrome 9	0,50	0,00259
7999614	LOC399491 /// PKD1P1 /// PKD1 /// NPIP /// LOC642778 /// LOC10028833 2	GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) /// nuclear pore complex interacting protein /// nuclear pore complex-interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein FLJ00285-like	0,45	0,00264
7923406	PTPN7	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 7	0,58	0,00265
8021914	ADNP2	ADNP homeobox 2	0,56	0,00265
8077458	EDEM1	ER degradation enhancer, mannosidase alpha-like 1	0,59	0,00265
8094393	ZCCHC4	zinc finger, CCHC domain containing 4	0,53	0,00265
8163086	C9orf5	chromosome 9 open reading frame 5	0,52	0,00274
7982185	LOC10028965 6 /// DEXI	Dexi homolog (mouse) pseudogene /// Dexi homolog (mouse)	0,55	0,00276
7986685	LOC10028965 6 /// DEXI	Dexi homolog (mouse) pseudogene /// Dexi homolog (mouse)	0,55	0,00276
8101757	GPRIN3	GPRIN family member 3	0,49	0,00276
8164883	SURF4	surfeit 4	0,65	0,00276
8168531	GPR174	G protein-coupled receptor 174	0,42	0,00276
7979437	C14orf149	chromosome 14 open reading frame 149	0,53	0,00280
8002762	RFWD3	ring finger and WD repeat domain 3	0,59	0,00280
7953749	CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D	3,28	0,00283
8110620	BTNL3	butyrophilin-like 3	2,27	0,00291
7906622	LY9	lymphocyte antigen 9	0,59	0,00293
8100177	ENST0000051 6018	ENST00000516018	2,35	0,00293
7928369	SEC24C	SEC24 family, member C (<i>S. cerevisiae</i>)	0,58	0,00293
7952046	MPZL2	myelin protein zero-like 2	2,01	0,00293
8161211	PAX5	paired box 5	0,51	0,00293

7980828	CCDC88C	coiled-coil domain containing 88C	0,49	0,00294
8163185	TXN	thioredoxin	3,31	0,00294
7903765	GSTM1	glutathione S-transferase mu 1	2,41	0,00297
8088092	RFT1	RFT1 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	0,60	0,00298
7902874	LRRC8C	leucine rich repeat containing 8 family, member C	0,56	0,00299
8146790	ENST00000483220	ENST00000483220	2,09	0,00299
8169419	ALG13	asparagine-linked glycosylation 13 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	0,43	0,00302
8166925	MAOA	monoamine oxidase A	1,88	0,00304
7959292	ENST00000516584	ENST00000516584	0,43	0,00308
7921690	ITLN1	intelectin 1 (galactofuranose binding)	2,18	0,00317
7917283	MCOLN2	mucolipin 2	0,52	0,00319
7911591	SLC35E2 /// SLC35E2B	solute carrier family 35, member E2 /// solute carrier family 35, member E2B	0,61	0,00319
7927552	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// AGAP5 /// AGAP6 /// AGAP9	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9	0,58	0,00319
8127767	ELOVL4	elongation of very long chain fatty acids (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, yeast)-like 4	0,49	0,00319
8093330	AK095510 /// AK124166	AK095510 /// AK124166	0,42	0,00325
7981242	BCL11B	B-cell CLL/lymphoma 11B (zinc finger protein)	0,59	0,00327
7927550	LOC728407 /// LOC100133130	poly(ADP-ribose) glycohydrolase pseudogene /// PRO1102	0,50	0,00327
7973797	COCH	coagulation factor C homolog, cochlin (<i>Limulus polyphemus</i>)	0,58	0,00333
8000375	ARHGAP17	Rho GTPase activating protein 17	0,51	0,00333
8082248	MGC72080	MGC72080 pseudogene	0,61	0,00333
7989132	RFX7	regulatory factor X, 7	0,46	0,00334
7990620	TSPAN3	tetraspanin 3	0,60	0,00334
8139392	DDX56	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 56	0,56	0,00334
8146159	AP3M2	adaptor-related protein complex 3, mu 2 subunit	0,54	0,00334
8166184	CA5B	carbonic anhydrase VB, mitochondrial	0,55	0,00334
7970376	ZNF828	zinc finger protein 828	0,57	0,00341
8014257	SLFN12L	schlafen family member 12-like	0,45	0,00341

8034871	ENST00000487444	ENST00000487444	2,33	0,00341
8100893	COX18	COX18 cytochrome c oxidase assembly homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	0,55	0,00341
8128894	REV3L	REV3-like, catalytic subunit of DNA polymerase zeta (yeast)	0,55	0,00341
8139118	Y00482 /// ENST00000390344	Y00482 /// ENST00000390344	2,66	0,00341
8177120	MAFIP /// LOC100132288 /// LOC100233156 /// TEKT4P1	MAFF interacting protein /// hypothetical protein LOC100132288 /// hypothetical LOC100233156 /// tektin 4 pseudogene 1	0,46	0,00341
8036913	BLVRB	biliverdin reductase B (flavin reductase (NADPH))	2,63	0,00343
7905058	LOC388692 /// LOC644634	hypothetical LOC388692 /// UPF0627 protein ENSP00000358171-like	0,55	0,00345
7949465	RELA	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (avian)	0,59	0,00345
8066254	ENST00000414142	ENST00000414142	0,54	0,00345
8148385	TG	thyroglobulin	1,60	0,00345
7928800	FAM190B	family with sequence similarity 190, member B	0,55	0,00346
8085431	NUP210	nucleoporin 210kDa	0,51	0,00347
7908940	ATP2B4	ATPase, Ca ⁺⁺ transporting, plasma membrane 4	0,52	0,00350
7944223	MLL	myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (trithorax homolog, <i>Drosophila</i>)	0,51	0,00350
8030364	RPL13A /// SNORD34	ribosomal protein L13a /// small nucleolar RNA, C/D box 34	0,40	0,00355
8035737	ATP13A1	ATPase type 13A1	0,59	0,00355
8154211	ENST00000495057	ENST00000495057	0,27	0,00355
7948906	SNHG1 /// SNORD27	small nucleolar RNA host gene 1 (non-protein coding) /// small nucleolar RNA, C/D box 27	0,27	0,00358
8054614	ANAPC1 /// LOC285074	anaphase promoting complex subunit 1 /// anaphase promoting complex subunit 1 pseudogene	0,54	0,00361
8023133	PIAS2	protein inhibitor of activated STAT, 2	0,54	0,00366
8093456	C4orf42	chromosome 4 open reading frame 42	0,58	0,00367
8010512	RPTOR	regulatory associated protein of MTOR, complex 1	0,59	0,00369
8073072	APOBEC3D	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3D	0,61	0,00369
8008139	UBE2Z	ubiquitin-conjugating enzyme E2Z	0,56	0,00369
7934451	AGAP4 /// AGAP7 /// AGAP8 ///	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH	0,59	0,00370

	LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6 /// AGAP10 /// AGAP9	domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9		
7963471	KRT73	keratin 73	2,03	0,00370
8009301	PRKCA	protein kinase C, alpha	0,54	0,00370
8023766	RTTN	rotatin	0,54	0,00370
8053484	ST3GAL5	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 5	0,61	0,00370
8056005	ACVR1	activin A receptor, type I	0,56	0,00370
8156319	MGC72080	MGC72080 pseudogene	0,62	0,00370
8162313	IARS	isoleucyl-tRNA synthetase	0,57	0,00370
7907092	MPZL1	myelin protein zero-like 1	1,79	0,00376
8071466	LZTR1	leucine-zipper-like transcription regulator 1	0,56	0,00381
8168524	P2RY10	purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 10	0,45	0,00381
8022531	NPC1	Niemann-Pick disease, type C1	0,52	0,00388
8073752	FAM118A	family with sequence similarity 118, member A	1,78	0,00390
7971241	MGC72080 /// OR7E37P	MGC72080 pseudogene /// olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 37 pseudogene	0,60	0,00396
8067040	NFATC2	nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic, calcineurin-dependent 2	0,50	0,00396
7921625	SLAMF6	SLAM family member 6	0,50	0,00400
7910164	ADCK3	aarF domain containing kinase 3	0,61	0,00403
7977373	MTA1	metastasis associated 1	0,58	0,00416
8078386	GPD1L	glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like	0,58	0,00416
7918517	WDR77	WD repeat domain 77	0,53	0,00424
7933427	AGAP4 /// AGAP9 /// AGAP8 /// AGAP7 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP10 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	0,60	0,00424
7939072	METT5D1	methyltransferase 5 domain containing 1	0,48	0,00424
7996772	SLC7A6OS ///	solute carrier family 7, member 6 opposite	0,50	0,00424

	SLC7A6	strand /// solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 6		
8155169	RECK	reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs	0,61	0,00424
7968787	MGC72080 /// OR7E37P	MGC72080 pseudogene /// olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 37 pseudogene	0,60	0,00426
8027398	PLEKHF1	pleckstrin homology domain containing, family F (with FYVE domain) member 1	0,57	0,00426
8032576	AES	amino-terminal enhancer of split	0,53	0,00436
8101376	SEC31A /// LOC100499177	SEC31 homolog A (<i>S. cerevisiae</i>) /// hypothetical LOC100499177	0,58	0,00436
8123044	TULP4	tubby like protein 4	0,57	0,00436
8031632	ZNF542	zinc finger protein 542	0,57	0,00444
7952305	BMPR1A	bone morphogenetic protein receptor, type IA	0,47	0,00447
7904869	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	0,59	0,00458
7904948	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	0,59	0,00458
7923778	ELK4	ELK4, ETS-domain protein (SRF accessory protein 1)	0,64	0,00458
7928855	BMPR1A	bone morphogenetic protein receptor, type IA	0,54	0,00458
7941694	RBM14	RNA binding motif protein 14	0,58	0,00458
7971134	C13orf23	chromosome 13 open reading frame 23	0,52	0,00458
7986049	CRTC3	CREB regulated transcription coactivator 3	0,57	0,00458
7989834	C15orf44	chromosome 15 open reading frame 44	0,59	0,00458
7997633	USP10	ubiquitin specific peptidase 10	0,60	0,00458
8044605	LOC654433	hypothetical LOC654433	0,37	0,00458
8045887	MGC72080	MGC72080 pseudogene	0,61	0,00458
8052798	AAK1	AP2 associated kinase 1	0,45	0,00458
8054945	BIN1	bridging integrator 1	0,57	0,00458
8078272	NR1D2	nuclear receptor subfamily 1, group D, member 2	0,53	0,00458
8096176	PTPN13	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 13 (APO-1/CD95 (Fas)-associated phosphatase)	0,53	0,00458
8099721	SEL1L3	sel-1 suppressor of lin-12-like 3 (<i>C. elegans</i>)	0,53	0,00458
8111629	NUP155	nucleoporin 155kDa	0,54	0,00458
8118682	PHF1	PHD finger protein 1	0,55	0,00458
8119427	TREML4	triggering receptor expressed on myeloid cells-like 4	2,59	0,00458
8129618	VNN1	vanin 1	0,35	0,00458
8150364	TM2D2	TM2 domain containing 2	0,53	0,00458
8062623	PLCG1	phospholipase C, gamma 1	0,57	0,00464

8164644	FAM78A	family with sequence similarity 78, member A	0,58	0,00465
7957665	ELK3	ELK3, ETS-domain protein (SRF accessory protein 2)	0,58	0,00466
8085350	C3orf31	chromosome 3 open reading frame 31	0,53	0,00466
8089261	CBLB	Cas-Br-M (murine) ecotropic retroviral transforming sequence b	0,56	0,00466
8141791	POLR2J3 /// UPK3BL /// POLR2J2	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J3 /// uroplakin 3B-like /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J2	0,47	0,00466
8065762	PIGU	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class U	0,58	0,00470
8118915	ZNF76	zinc finger protein 76 (expressed in testis)	0,61	0,00470
7974249	ARF6	ADP-ribosylation factor 6	0,61	0,00470
8136641	TAS2R3	taste receptor, type 2, member 3	0,48	0,00477
7948476	PRPF19	PRP19/PSO4 pre-mRNA processing factor 19 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	0,64	0,00481
8016414	SKAP1	src kinase associated phosphoprotein 1	0,59	0,00485
8012856	ELAC2	elaC homolog 2 (<i>E. coli</i>)	0,59	0,00488
8042556	ENST00000468558	ENST00000468558	2,19	0,00488
8126588	XPO5	exportin 5	0,58	0,00488
7904907	BCL9	B-cell CLL/lymphoma 9	0,63	0,00490
7972426	ENST00000410540	ENST00000410540	1,81	0,00490
7993359	NPIP /// PKD1P1 /// LOC642778 /// LOC100288332	nuclear pore complex interacting protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// nuclear pore complex-interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein FLJ00285-like	0,46	0,00490
8041508	QPCT	glutaminy-peptide cyclotransferase	1,97	0,00490
8078888	CCR8	chemokine (C-C motif) receptor 8	0,52	0,00490
8145922	DDHD2	DDHD domain containing 2	0,57	0,00490
7912496	MTHFR	methylenetetrahydrofolate reductase (NAD(P)H)	0,58	0,00492
7991214	AK090766	AK090766	0,37	0,00492
7993349	NPIP /// PKD1P1 /// LOC642778 /// LOC100288332	nuclear pore complex interacting protein /// polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) pseudogene 1 /// nuclear pore complex-interacting protein-like 1-like /// GPS, PLAT and transmembrane domain-containing protein FLJ00285-like	0,46	0,00492
7939465	HSD17B12	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 12	0,53	0,00494
8002266	CTF8	CTF8, chromosome transmission fidelity factor 8 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	0,66	0,00494
8090091	PTPLB	protein tyrosine phosphatase-like (proline instead of catalytic arginine), member b	0,56	0,00497
8057898	HECW2	HECT, C2 and WW domain containing E3	1,77	0,00503

		ubiquitin protein ligase 2		
7984704	NEO1	neogenin 1	0,57	0,00503
7974455	MAPK1IP1L	mitogen-activated protein kinase 1 interacting protein 1-like	0,62	0,00506
7994603	SPN	sialoporphin	0,56	0,00506
8029856	GRLF1	glucocorticoid receptor DNA binding factor 1	0,58	0,00506
8063394	PTPN1	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	0,69	0,00506
8069178	ADARB1	adenosine deaminase, RNA-specific, B1	0,53	0,00506
8075493	PATZ1	POZ (BTB) and AT hook containing zinc finger 1	0,57	0,00506
8082244	MGC72080	MGC72080 pseudogene	0,62	0,00512
8087748	VPRBP /// RBM15B	Vpr (HIV-1) binding protein /// RNA binding motif protein 15B	0,59	0,00512
8163795	PSMD5	proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 5	0,56	0,00517
7906021	MSTO1 /// MSTO2P	misato homolog 1 (Drosophila) /// misato homolog 2 pseudogene	0,55	0,00517
7923917	FAIM3	Fas apoptotic inhibitory molecule 3	0,50	0,00517
7991758	HBM	hemoglobin, mu	3,73	0,00517
8094228	BST1	bone marrow stromal cell antigen 1	1,73	0,00523
7918487	DENND2D	DENN/MADD domain containing 2D	0,61	0,00524
7973105	RNASE3	ribonuclease, RNase A family, 3	2,91	0,00524
8064637	C20orf194	chromosome 20 open reading frame 194	0,58	0,00524
8066493	SLPI	secretory leukocyte peptidase inhibitor	2,50	0,00524
8118734	ITPR3	inositol 1,4,5-triphosphate receptor, type 3	0,57	0,00524
8122971	ARID1B	AT rich interactive domain 1B (SWI1-like)	0,48	0,00524
8128638	SCML4	sex comb on midleg-like 4 (Drosophila)	0,63	0,00524
8075063	HPS4	Hermansky-Pudlak syndrome 4	0,60	0,00525
7940996	PRDX5	peroxiredoxin 5	2,03	0,00526
8086842	MAP4	microtubule-associated protein 4	0,63	0,00526
8127787	IBTK	inhibitor of Bruton agammaglobulinemia tyrosine kinase	0,54	0,00526
8144625	BLK	B lymphoid tyrosine kinase	0,57	0,00526
7901219	NSUN4	NOP2/Sun domain family, member 4	0,57	0,00529
8066038	SLA2 /// C20orf24	Src-like-adaptor 2 /// chromosome 20 open reading frame 24	0,59	0,00529
8049088	COPS7B	COP9 constitutive photomorphogenic homolog subunit 7B (Arabidopsis)	0,59	0,00540
7944850	TBRG1	transforming growth factor beta regulator 1	0,60	0,00540
8170863	RPL10 /// SNORA70	ribosomal protein L10 /// small nucleolar RNA, H/ACA box 70	0,45	0,00542
7955045	FAM113B	family with sequence similarity 113, member B	0,53	0,00545
7898998	RHD /// RHCE	Rh blood group, D antigen /// Rh blood group, CcEe antigens	2,04	0,00550
7904930	GPR89B /// GPR89A /// GPR89C	G protein-coupled receptor 89B /// G protein-coupled receptor 89A /// G protein-coupled receptor 89C	0,53	0,00550
7957242	ATXN7L3B	ataxin 7-like 3B	0,64	0,00550

8056222	DPP4	dipeptidyl-peptidase 4	0,49	0,00550
8075924	MFNG	MFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase	0,57	0,00550
8164304	ST6GALNAC6 /// LOC100131355	ST6 (alpha-N-acetyl-neuraminy-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 6 /// hypothetical protein LOC100131355	0,65	0,00550
7903369	SLC30A7	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 7	0,55	0,00552
7972487	DOCK9	dedicator of cytokinesis 9	0,53	0,00552
8102415	CAMK2D	calcium/calmodulin-dependent protein kinase II delta	0,54	0,00552
7906786	FCRLA	Fc receptor-like A	0,52	0,00557
7964631	FAM19A2	family with sequence similarity 19 (chemokine (C-C motif)-like), member A2	2,07	0,00557
7950447	XRRA1 /// RNF169	X-ray radiation resistance associated 1 /// ring finger protein 169	1,68	0,00560
8062557	PPP1R16B	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 16B	0,63	0,00560
8144740	ENST00000492214 /// GENSCAN0000035781	ENST00000492214 /// GENSCAN0000035781	1,76	0,00560
8161017	SIT1	signaling threshold regulating transmembrane adaptor 1	0,55	0,00560
7925364	HEATR1 /// LGALS8	HEAT repeat containing 1 /// lectin, galactoside-binding, soluble, 8	0,50	0,00571
7933574	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	0,60	0,00571
7904853	GPR89B /// GPR89A /// GPR89C	G protein-coupled receptor 89B /// G protein-coupled receptor 89A /// G protein-coupled receptor 89C	0,48	0,00583
7958352	BTBD11	BTB (POZ) domain containing 11	0,61	0,00583
8080438	SPCS1 /// GLT8D1	signal peptidase complex subunit 1 homolog (<i>S. cerevisiae</i>) /// glycosyltransferase 8 domain containing 1	0,64	0,00586
7911289	ZNF672	zinc finger protein 672	0,63	0,00593
7927981	SUPV3L1	suppressor of var1, 3-like 1 (<i>S. cerevisiae</i>)	0,61	0,00593
7930498	ACSL5	acyl-CoA synthetase long-chain family member 5	0,60	0,00593
7973110	RNASE2	ribonuclease, RNase A family, 2 (liver, eosinophil-derived neurotoxin)	4,11	0,00593
7990165	PARP6	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 6	0,62	0,00593

8018823	TMC6	transmembrane channel-like 6	0,53	0,00593
8024019	PTBP1	polypyrimidine tract binding protein 1	0,58	0,00593
8108558	SLC35A4	solute carrier family 35, member A4	0,60	0,00593
8116559	IRF4	interferon regulatory factor 4	0,59	0,00593
8142143	COG5	component of oligomeric golgi complex 5	0,55	0,00593
8161192	RNF38	ring finger protein 38	0,61	0,00593
7902883	LRRC8D	leucine rich repeat containing 8 family, member D	0,61	0,00603
8010924	VPS53	vacuolar protein sorting 53 homolog (S. cerevisiae)	0,58	0,00603
7932453	NEBL	nebullette	2,03	0,00607
8094968	ZAR1	zygote arrest 1	1,66	0,00607
8174029	TAF7L	TAF7-like RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor, 50kDa	1,66	0,00607
8075886	IL2RB	interleukin 2 receptor, beta	0,50	0,00612
8085263	TMEM111	transmembrane protein 111	2,26	0,00612
8088642	LRIG1	leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 1	0,60	0,00612
8058415	INO80D	INO80 complex subunit D	0,59	0,00612
7919251	GPR89B /// GPR89A /// GPR89C	G protein-coupled receptor 89B /// G protein-coupled receptor 89A /// G protein-coupled receptor 89C	0,54	0,00623
7921133	HDGF	hepatoma-derived growth factor	1,97	0,00624
7994187	TNRC6A	trinucleotide repeat containing 6A	0,53	0,00624
8083063	SLC25A36	solute carrier family 25, member 36	0,55	0,00628
7951896	PCSK7	proprotein convertase subtilisin/kexin type 7	0,61	0,00633
8003576	TUBB4Q	tubulin, beta polypeptide 4, member Q	1,76	0,00633
7939767	MADD	MAP-kinase activating death domain	0,62	0,00643
8093332	ZNF876P	zinc finger protein 876, pseudogene	1,78	0,00643
8129637	VNN2	vanin 2	1,99	0,00643
8141795	POLR2J2 /// POLR2J3 /// POLR2J4 /// LOC441259 /// POLR2J	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J2 /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J3 /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J4, pseudogene /// PMS2 postmeiotic segregation increased 2 (S. cerevisiae)-like /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J, 13.3kDa	0,57	0,00643
7946742	CYP2R1	cytochrome P450, family 2, subfamily R, polypeptide 1	0,55	0,00647
8009164	DCAF7	DDB1 and CUL4 associated factor 7	0,59	0,00647
8053890	STARD7	StAR-related lipid transfer (START) domain containing 7	0,65	0,00647
8124305	ENST00000465067	ENST00000465067	0,60	0,00649
8129627	VNN3	vanin 3	2,24	0,00661
7932209	ENST00000413685	ENST00000413685	0,57	0,00679
7933252	AGAP4 ///	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin	0,60	0,00679

	AGAP9 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6		
7989365	RORA	RAR-related orphan receptor A	0,51	0,00679
8077612	TTL3 /// BRPF1	tubulin tyrosine ligase-like family, member 3 /// bromodomain and PHD finger containing, 1	0,59	0,00679
8009353	PITPNC1	phosphatidylinositol transfer protein, cytoplasmic 1	0,62	0,00682
8074286	MICAL3	microtubule associated monooxygenase, calponin and LIM domain containing 3	0,59	0,00682
7933760	CCDC6	coiled-coil domain containing 6	0,59	0,00688
7953835	KLRG1	killer cell lectin-like receptor subfamily G, member 1	0,44	0,00692
8149365	FAM86B1 /// FAM86B2	family with sequence similarity 86, member B1 /// family with sequence similarity 86, member B2	0,64	0,00697
8007904	GOSR2	golgi SNAP receptor complex member 2	0,60	0,00702
8046116	G6PC2	glucose-6-phosphatase, catalytic, 2	1,81	0,00706
8092095	TNIK	TRAF2 and NCK interacting kinase	0,52	0,00706
8145201	KIAA1967	KIAA1967	0,57	0,00706
7914764	ZMYM6 /// LOC653160 /// LOC10013063 3	zinc finger, MYM-type 6 /// hypothetical LOC653160 /// hypothetical protein LOC100130633	0,63	0,00709
7908732	IPO9	importin 9	0,61	0,00728
7933405	AGAP4 /// AGAP8 /// AGAP7 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP10 /// AGAP9 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	0,61	0,00728
8033248	TNFSF14	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14	1,51	0,00728
8154934	IL11RA	interleukin 11 receptor, alpha	0,59	0,00728
7914617	AK2	adenylate kinase 2	0,57	0,00728

8049478	COPS8	COP9 constitutive photomorphogenic homolog subunit 8 (<i>Arabidopsis</i>)	0,57	0,00728
8159006	SNORD36B	small nucleolar RNA, C/D box 36B	0,40	0,00728
7946330	OR10A6	olfactory receptor, family 10, subfamily A, member 6	1,73	0,00736
7992895	ZNF434	zinc finger protein 434	0,49	0,00736
7997909	SPG7	spastic paraplegia 7 (pure and complicated autosomal recessive)	0,64	0,00736
8007848	LOC644172 /// MAPK8IP1	mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1 pseudogene /// mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1	2,08	0,00736
8013860	MYO18A /// TIAF1	myosin XVIII A /// TGF β 1-induced anti-apoptotic factor 1	0,60	0,00736
8079693	WDR6	WD repeat domain 6	0,54	0,00736
8157231	ENST0000036 2655	ENST00000362655	0,23	0,00736
8012257	TP53	tumor protein p53	0,55	0,00739
8027837	CD22	CD22 molecule	0,47	0,00739
8068684	FAM3B	family with sequence similarity 3, member B	1,79	0,00739
8131614	AHR	aryl hydrocarbon receptor	0,51	0,00739
8169365	TMEM164	transmembrane protein 164	0,58	0,00739
8139592	HUS1	HUS1 checkpoint homolog (<i>S. pombe</i>)	0,61	0,00739
8081277	NIT2	nitrilase family, member 2	0,60	0,00741
8142100	ATXN7L1	ataxin 7-like 1	0,51	0,00745
7910752	MTR	5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase	0,60	0,00749
8155944	ENST0000045 1550 /// GENSCAN00 000019356	ENST00000451550 /// GENSCAN00000019356	1,99	0,00749
7962236	ENST0000038 4299	ENST00000384299	1,75	0,00751
8010161	SEPT9	septin 9	0,56	0,00751
8119801	ABCC10	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 10	0,66	0,00751
8080226	DNAH1	dynein, axonemal, heavy chain 1	0,60	0,00754
7998604	HAGH	hydroxyacylglutathione hydrolase	2,03	0,00756
8121861	NCOA7	nuclear receptor coactivator 7	0,55	0,00759
8144184	ESYT2	extended synaptotagmin-like protein 2	0,62	0,00759
8078360	STT3B	STT3, subunit of the oligosaccharyltransferase complex, homolog B (<i>S. cerevisiae</i>)	0,63	0,00765
7899955	ENST0000036 4998	ENST00000364998	0,44	0,00767
7941946	NDUFV1	NADH dehydrogenase (ubiquinone) flavoprotein 1, 51kDa	0,61	0,00767
7945979	TRIM68	tripartite motif-containing 68	0,53	0,00767
7967193	MORN3	MORN repeat containing 3	0,64	0,00767
8043848	MRPL30	mitochondrial ribosomal protein L30	0,58	0,00767

8160670	AQP3	aquaporin 3 (Gill blood group)	0,54	0,00767
7966938	GCN1L1	GCN1 general control of amino-acid synthesis 1-like 1 (yeast)	0,57	0,00768
7902452	AK5	adenylate kinase 5	0,54	0,00772
8074842	FAM108A1 /// FAM108A11P	family with sequence similarity 108, member A1 /// family with sequence similarity 108, member A11, pseudogene	0,62	0,00772
8149389	FAM86B1 /// FAM86B2	family with sequence similarity 86, member B1 /// family with sequence similarity 86, member B2	0,66	0,00772
8179228	TCF19	transcription factor 19	0,60	0,00772
7956401	SHMT2	serine hydroxymethyltransferase 2 (mitochondrial)	0,65	0,00775
8025498	RPL10 /// SNORA70	ribosomal protein L10 /// small nucleolar RNA, H/ACA box 70	0,46	0,00778
8026696	ENST00000473617	ENST00000473617	2,35	0,00781
8052925	TEX261	testis expressed 261	0,59	0,00781
7981530	GPR132	G protein-coupled receptor 132	0,62	0,00785
7905043	LOC388692 /// LOC644634	hypothetical LOC388692 /// UPF0627 protein ENSP00000358171-like	0,61	0,00786
8045349	MGAT5	mannosyl (alpha-1,6-)-glycoprotein beta-1,6-N-acetyl-glucosaminyltransferase	0,62	0,00789
8067288	ATP5E	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, epsilon subunit	2,62	0,00789
7904969	VOPP1	vesicular, overexpressed in cancer, prosurvival protein 1	0,65	0,00791
8051204	SUPT7L /// GPN1	suppressor of Ty 7 (<i>S. cerevisiae</i>)-like /// GPN-loop GTPase 1	0,63	0,00791
8076176	CBX6	chromobox homolog 6	0,57	0,00791
7907439	PRDX6	peroxiredoxin 6	2,23	0,00792
7962312	ABCD2	ATP-binding cassette, sub-family D (ALD), member 2	0,54	0,00792
7968270	ATP5EP2	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, epsilon subunit pseudogene 2	2,99	0,00792
8061706	POFUT1	protein O-fucosyltransferase 1	0,62	0,00792
7941214	POLA2	polymerase (DNA directed), alpha 2 (70kD subunit)	0,66	0,00794
8129901	REPS1	RALBP1 associated Eps domain containing 1	0,58	0,00794
8089723	ENST00000491078	ENST00000491078	2,31	0,00799
8094501	STIM2	stromal interaction molecule 2	0,64	0,00799
8097626	LOC441046	glucuronidase, beta pseudogene	0,61	0,00799
7990092	MYO9A	myosin IXA	0,50	0,00800
8008682	MSI2	musashi homolog 2 (<i>Drosophila</i>)	0,60	0,00800
7915882	KIAA0494	KIAA0494	0,58	0,00803
8081657	CD200	CD200 molecule	0,57	0,00803
8000869	SEPT1	septin 1	0,62	0,00807
8009685	SLC9A3R1	solute carrier family 9 (sodium/hydrogen	0,64	0,00810

		exchanger), member 3 regulator 1		
8019807	USP14	ubiquitin specific peptidase 14 (tRNA-guanine transglycosylase)	0,58	0,00810
8143188	CREB3L2	cAMP responsive element binding protein 3-like 2	0,60	0,00810
8154635	MTAP /// CDKN2B-AS	methylthioadenosine phosphorylase /// CDKN2B antisense RNA (non-protein coding)	0,62	0,00810
8073135	SMCR7L	Smith-Magenis syndrome chromosome region, candidate 7-like	0,65	0,00822
8144322	MYOM2	myomesin (M-protein) 2, 165kDa	2,04	0,00825
8146687	ADHFE1	alcohol dehydrogenase, iron containing, 1	0,51	0,00825
7942073	IGHMBP2	immunoglobulin mu binding protein 2	0,68	0,00836
8061428	ENTPD6	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 6 (putative)	0,66	0,00836
8090193	HEG1	HEG homolog 1 (zebrafish)	0,58	0,00836
8114536	TMEM173	transmembrane protein 173	0,58	0,00836
8155547	LOC442421	hypothetical LOC442421	0,64	0,00836
7907058	POU2F1	POU class 2 homeobox 1	0,58	0,00838
8108080	PHF15	PHD finger protein 15	0,63	0,00838
8167912	KLF8	Kruppel-like factor 8	0,57	0,00838
7927353	AGAP4 /// AGAP9 /// AGAP8 /// AGAP7 /// AGAP10 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP6	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 7 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 6	0,61	0,00840
7933331	AGAP4 /// AGAP9 /// AGAP10 /// LOC399753 /// AGAP5 /// AGAP8	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 4 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 9 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 10 /// hypothetical LOC399753 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 5 /// ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 8	0,61	0,00840
7951633	ALG9 /// FDXACB1	asparagine-linked glycosylation 9, alpha-1,2-mannosyltransferase homolog (S. cerevisiae) /// ferredoxin-fold anticodon binding domain containing 1	0,67	0,00841
7997025	PDPR	pyruvate dehydrogenase phosphatase regulatory subunit	0,49	0,00841
8142059	ENST00000467823	ENST00000467823	2,10	0,00842

8082086	PARP15	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 15	0,45	0,00842
7951112	MTMR2	myotubularin related protein 2	0,61	0,00842
8124448	HIST1H4H	histone cluster 1, H4h	2,05	0,00854
8131013	SUN1	Sad1 and UNC84 domain containing 1	0,60	0,00868
7904715	ENST00000364688	ENST00000364688	1,96	0,00869
7945873	MGC72080	MGC72080 pseudogene	0,61	0,00870
8139712	VOPP1	vesicular, overexpressed in cancer, prosurvival protein 1	0,67	0,00870
7940189	OR4D9	olfactory receptor, family 4, subfamily D, member 9	1,82	0,00872
8030339	FLT3LG	fms-related tyrosine kinase 3 ligand	0,64	0,00872
7906852	UHMK1	U2AF homology motif (UHM) kinase 1	0,56	0,00875
8107750	PRRC1	proline-rich coiled-coil 1	0,59	0,00875
8141872	NAPEPLD	N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D	0,45	0,00889
8084100	USP13	ubiquitin specific peptidase 13 (isopeptidase T-3)	0,55	0,00903
8047356	LOC100129888 /// NIF3L1	hypothetical LOC100129888 /// NIF3 NGG1 interacting factor 3-like 1 (S. pombe)	0,66	0,00905
7955908	NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like	0,58	0,00913
8027604	KIAA0355	KIAA0355	0,60	0,00921
8046020	SCN2A	sodium channel, voltage-gated, type II, alpha subunit	1,62	0,00921
8148147	ENST00000459148	ENST00000459148	1,95	0,00921
7925130	TARBP1	TAR (HIV-1) RNA binding protein 1	0,60	0,00921
7980636	EML5	echinoderm microtubule associated protein like 5	0,56	0,00921
7920238	S100A12	S100 calcium binding protein A12	2,75	0,00923
7980891	TC2N	tandem C2 domains, nuclear	0,53	0,00933
7998835	AK097909 /// AK131509 /// AK292678 /// BC043252	AK097909 /// AK131509 /// AK292678 /// BC043252	0,54	0,00933
8075846	FLJ90680	FLJ90680 protein	1,92	0,00933
7897774	CLCN6	chloride channel 6	0,62	0,00937
8071823	CABIN1	calcineurin binding protein 1	0,61	0,00937
8129179	ENST00000384730	ENST00000384730	1,62	0,00938
8024282	DAZAP1	DAZ associated protein 1	0,67	0,00940
8129377	ENST00000364743	ENST00000364743	1,66	0,00940
7998929	ENST00000470337	ENST00000470337	1,96	0,00958
8005685	ENST00000492330	ENST00000492330	1,91	0,00958
8145293	ADAM28	ADAM metallopeptidase domain 28	0,50	0,00958
8139264	POLR2J2 ///	polymerase (RNA) II (DNA directed)	0,59	0,00963

	POLR2J3 /// POLR2J4 /// SPDYE2	polypeptide J2 /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J3 /// polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J4, pseudogene /// speedy homolog E2 (<i>Xenopus laevis</i>)		
7935230	ALDH18A1	aldehyde dehydrogenase 18 family, member A1	0,61	0,00964
7903393	S1PR1	sphingosine-1-phosphate receptor 1	0,67	0,00967
8109975	NPM1	nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin)	1,88	0,00967
7981514	AHNAK2	AHNAK nucleoprotein 2	1,55	0,00976
7924733	PARP1	poly (ADP-ribose) polymerase 1	0,60	0,00978
7912086	NOL9	nucleolar protein 9	0,58	0,00980
8106068	MCCC2 /// LOC10051070 6	methylcrotonoyl-CoA carboxylase 2 (beta) /// methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial-like	0,62	0,00987
8177601	MCCC2 /// LOC10051070 6	methylcrotonoyl-CoA carboxylase 2 (beta) /// methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial-like	0,62	0,00987
8120883	DOPEY1	dopey family member 1	0,57	0,00989
8159945	AK3	adenylate kinase 3	0,69	0,00989
7937782	TSPAN32	tetraspanin 32	0,64	0,00999
7939265	NAT10	N-acetyltransferase 10 (GCN5-related)	0,62	0,00999
8016261	LOC644172 /// MAPK8IP1	mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1 pseudogene /// mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1	1,88	0,00999
8023415	TCF4	transcription factor 4	0,62	0,00999
8087485	UBA7	ubiquitin-like modifier activating enzyme 7	0,58	0,00999
8101237	PAQR3	progesterin and adipoQ receptor family member III	0,62	0,00999
8108472	PURA	purine-rich element binding protein A	0,66	0,00999