

ГЕНОМИКА.
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 575.113:616.248

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ
В ВОЛГО-УРАЛЬСКОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

© 2011 г. А. С. Карунас^{1*}, Б. Б. Юнусбаев¹, Ю. Ю. Федорова¹, Г. Ф. Гималова¹,
Н. Н. Рамазанова², Л. Л. Гурьева², Л. А. Мухтарова², Ш. З. Загидуллин²,
Э. И. Эткина², Э. К. Хуснутдинова¹

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, 450054

²Башкирский государственный медицинский университет Росздравообразования, Уфа, 450000

Поступила в редакцию 06.05.2011 г.

Принята к печати 31.05.2011 г.

Бронхиальная астма — хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, развивающееся в результате взаимодействия многочисленных факторов окружающей среды и наследственной предрасположенности. При первом полногеномном анализе обнаружена значимая ассоциация однонуклеотидных полиморфных вариантов, локализованных в области 17q12-q21, с детской астмой у индивидов европейского происхождения. В дальнейшем эти результаты успешно воспроизвели на независимых выборках европейского и азиатского происхождения. В представленной работе приведены результаты первого полногеномного анализа ассоциации бронхиальной астмы в Волго-Уральском регионе России. Исследуемая выборка состояла из 358 неродственных больных бронхиальной астмой и 369 человек контрольной группы различной этнической принадлежности (русские, татары и башкиры). Генотипирование образцов ДНК проведено с использованием Illumina Human610 quad array (“Illumina”) в рамках проекта GABRIEL (контракт ЕС № LSHB-CT-2006-018996). После проведения всех этапов контроля качества проанализировали ассоциацию с бронхиальной астмой 550915 однонуклеотидных полиморфизмов, генотипированных у 330 больных бронхиальной астмой и 348 индивидов из контрольной группы. Установлена статистически значимая ассоциация ($p \leq 4.79 \times 10^{-7}$) пяти однонуклеотидных полиморфизмов, локализованных в области 17q12-q21, с развитием бронхиальной астмы. Полиморфный локус с наиболее высоким уровнем ассоциации с бронхиальной астмой (rs7216389) расположен в первом интроне гена гасдермина В *GSDMB* ($p = 1.01 \times 10^{-7}$). Ассоциация с детской астмой была более выраженной ($p = 1.97 \times 10^{-6}$ для rs7216389), чем с бронхиальной астмой с поздним началом ($p = 1.8 \times 10^{-4}$ для rs7216389). В независимой выборке больных бронхиальной астмой и индивидов контрольной группы выявлена ассоциация трех однонуклеотидных полиморфизмов гена *GSDMB* только с заболеванием, развившимся в детском возрасте. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важной роли однонуклеотидных полиморфизмов, локализованных в области 17q12-q21, в развитии бронхиальной астмы в Волго-Уральском регионе России.

Ключевые слова: полногеномный анализ ассоциаций, бронхиальная астма.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY OF BRONCHIAL ASTHMA IN THE VOLGA-URAL REGION OF RUSSIA, by A. S. Karunas^{1*}, B. B. Yunusbayev¹, Y. Y. Fedorova¹, G. F. Gimalova¹, N. N. Ramazanova², L. L. Gurjeva², L. A. Mukhtarova², S. Z. Zagidullin², E. I. Etkina², E. K. Khusnutdinova¹ (¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia, *e-mail: carunas@list.ru; ²Bashkir Medical State University, Ufa, 450000 Russia). Bronchial asthma is a chronic inflammatory respiratory disease that is caused by the complex interaction of environmental influences and genetic susceptibility. The first genome-wide association study of bronchial asthma discovered a significant association between SNPs within 17q12-21 genomic region and childhood bronchial asthma in individuals of European descent. Association with this genomic region was then replicated in a number of independent samples of European and Asian descent. Here we report results of the first genome-wide association study of bronchial asthma in the Volga-Ural region of Russia. The present study includes 358 unrelated patients with physician-diagnosed bronchial asthma and 369 disease-free control subjects of different ethnic origin (Russians, Tatars and Bashkirs). Genotyping of DNA samples was carried out using the Illumina Human610 quad array as a part of GABRIEL project (contract from the EC № LSHB-CT-2006-018996). After QC filtering procedures, a final set of 550915 SNPs genotyped in 330 cases and 348 controls was tested for association with bronchial asthma. Five markers on chromosome 17q12-21 showed statistically significant association with bronchial asthma ($p \leq 4.79 \times 10^{-7}$).

* Эл. почта: carunas@list.ru

SNP rs7216389 with the strongest evidence for association ($p = 1.01 \times 10^{-7}$) is located within the first intron of the *GSDMB* gene. Evidence for association was stronger with childhood-onset asthma ($p = 1.97 \times 10^{-6}$ for SNP rs7216389) compared to late-onset asthma ($p = 1.8 \times 10^{-4}$ for SNP rs7216389). Our replication study using three SNPs within *GSDMB* gene confirmed association with only childhood-onset asthma. In summary, these results suggest an important role for genetic variants within 17q12-q21 region in the development of bronchial asthma in the Volga-Ural region of Russia.

Keywords: genome-wide association study, bronchial asthma.

Бронхиальная астма (БА) — хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, которое развивается в результате взаимодействия многочисленных факторов окружающей среды и наследственной предрасположенности. Распространенность данной патологии в разных странах варьирует от 1–2% в Албании и Греции до 15–18% в Ирландии, Новой Зеландии и Уэльсе [1]. Согласно данным Российского респираторного общества, частота БА у детей составляет от 5.6 до 12.1%, у взрослых — от 5.6 до 7.3% [2]. Хроническое рецидивирующее течение, накладывающее значительные ограничения на повседневную жизнь больных, увеличение доли лиц с тяжелой формой БА, высокая распространенность и неуклонный рост заболеваемости БА во всем мире свидетельствуют об актуальности изучения сложных механизмов развития этого заболевания.

Многочисленные генетические исследования показали, что в патогенезе БА принимает участие множество функционально взаимосвязанных генов. Это гены главного комплекса гистосовместимости, цитокинов, медиаторов воспаления, β_2 -адренорецепторов, ферментов биотрансформации ксенобиотиков; гены, белковые продукты которых участвуют в распознавании консервативных структур микроорганизмов, в регуляции барьерной функции эпителия, детерминации тканевого ответа на хроническое воспаление и др. [3].

Один из наиболее перспективных современных методов изучения сложных признаков — метод полногеномного анализа ассоциаций (Genome-wide Association Studies, GWAS), в котором проводят генотипирование и тестирование ассоциации с заболеванием сотен тысяч однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), распределенных по всему геному, у сотен или тысяч индивидов [4]. Результаты первого GWAS БА, выполненного под руководством Cookson W. в рамках междисциплинарного проекта Шестой Рамочной программы Европейского союза консорциумом GABRIEL, опубликованы в 2007 г. [5]. Обнаружена статистически значимая ассоциация ОНП, локализованная в области 17q12-q21, с детской астмой в Германии и Англии. За последние три года полногеномный анализ ассоциации БА проведен в различных популяциях мира, и обнаружены новые гены, ассоциированные с развитием БА у индивидов европейского происхождения — *DENND1B*

(1q31), *PDE4D* (5q12), *RAD50* (5q31.1) и *IL1RL1* (2q11.2); у лиц африканского происхождения — *ADRA1B* (5q33), *PRNP* (20pter-p12) и *DPP10* (2q12.3-q14.2); у мексиканцев — *TLE4* (9q21.31) и корейцев — *CTNNA3* (10q22.2) (<http://www.genome.gov/GWASudies/>) [6]. В 2010 г. консорциум GABRIEL представил результаты крупномасштабного всестороннего генетического изучения астмы, в котором приняли участие около 40 исследовательских групп из разных стран [7]. Россию в консорциуме представляли ученые из Томского государственного медицинского университета, Курского государственного медицинского университета и Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН. В результате проведенного полногеномного анализа на многочисленной выборке (10365 больных БА, 16110 контрольных индивидов) подтверждена ассоциация детской БА с ОНП из области 17q12-q21, а также выявлен ряд других статистически значимо ($p \leq 7.2 \times 10^{-8}$) ассоциированных с БА полиморфных локусов генов *IL1RL1/IL18R1* (2q12), *HLA-DQ* (6p21.3), *IL33* (9p24.1), *SMAD3* (15q21-q22) и *IL2RB* (22q11.2-q13) [7].

Опубликованные к настоящему времени результаты изучения многофакторных заболеваний свидетельствуют о существовании межпопуляционных различий в подверженности к той или иной патологии, в том числе к БА. Генетическая дифференциация популяций по генам болезней столь же велика, как и общий уровень межпопуляционного разнообразия на полногеномном уровне. В связи с этим актуально изучение этноспецифических факторов риска БА, позволяющих с высокой точностью предсказывать вероятность развития заболевания с учетом этнической принадлежности человека. В настоящей работе впервые приведены основные результаты выполненного в рамках гранта Шестой рамочной программы Евросоюза GABRIEL полногеномного анализа ассоциации БА в трех этнических группах, проживающих в Волго-Уральском регионе России (русские, татары и башкиры).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы образцы ДНК 358 неродственных больных БА в возрасте от 2 до 67 лет (средний возраст 18.84 г.). Обследованные проходили лечение в детском отделении Клиники Баш-

кирского государственного медицинского университета (БГМУ), в пульмонологическом и аллергологическом отделениях Городской клинической больницы № 21 г. Уфы. Диагноз БА устанавливался в соответствии с критериями GINA и отечественных программных документов по диагностике, лечению и профилактике БА [1, 2, 8]. Состав больных по этнической принадлежности был следующим: русские – 160, татары – 125, башкиры – 73. Контролем служила группа из 369 практически здоровых лиц (152 русские, 117 татары, 100 башкиры) без признаков аллергических заболеваний и отягощенной наследственности, в возрасте от 2 до 53 лет (средний возраст 19.59), сопоставимых по возрасту и полу с группой больных. Исследование было одобрено Этическим комитетом ИБГ УНЦ РАН. Все его участники или их родители (у индивидов детского возраста) дали информированное согласие на участие в исследовании.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [9]. Полногеномное генотипирование образцов ДНК проводили на Illumina Platform с использованием Illumina Human610 quad array (“Illumina”) в Национальном центре генотипирования в г. Эври (Франция).

После получения результатов генотипирования мы провели строгий контроль качества образцов ДНК и генотипированных маркеров. Из анализируемой выборки исключали образцы ДНК, у которых не прошло генотипирование более 5% маркеров, и образцы с несоответствием обозначенной и установленной при генотипировании половой принадлежностью. Проанализировав у различных индивидов долю идентичных аллелей (identical by state, IBS) и долю аллелей с общим происхождением (identical by descent, IBD), мы выявили и исключили из анализируемой выборки дублированные образцы ДНК и возможных близких родственников. Из дальнейшего анализа также исключили ОНП, по которым не прошло генотипирование более чем у 5% индивидов, ОНП с частотой редкого аллеля (minor allele frequency, MAF) менее 0.01 и ОНП со статистически значимым отклонением ($p < 0.001$) от равновесия Харди–Вайнберга (HWE). Для учета популяционной гетерогенности выборок больных и контроля проведен EIGENSTRAT-анализ, позволяющий сделать поправку на популяционную стратификацию в полногеномном масштабе [10].

Анализ ассоциации ОНП выполнен с помощью пакета программ PLINK 1.06 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/index.shtml>) [11]. Полногеномный уровень значимости $p \leq 4.79 \times 10^{-7}$, при котором ожидаемая доля ложноположительных результатов не превышает 5% (5% false discovery rate), определяли с использованием функции q

value в среде программирования R (www.r-project.org) [12, 13].

Анализ неравновесия по сцеплению (LD) и гаплотипический анализ проведены с помощью программы Haploview 4.2 [14]. Частоты гаплотипов оценивали с помощью EM-алгоритма, LD между парами ОНП оценивали с помощью коэффициента D' , предложенного Левонтином, и коэффициента корреляции r^2 Пирсона, предусмотренных программным обеспечением Haploview 4.2.

Репликация результатов полногеномного анализа выполнена на независимых выборках больных БА и здоровых индивидов (контроль). Группу больных составили 202 человека (русские, татары и башкиры) в возрасте от 2 до 67 лет (средний возраст 26.13), проходивших лечение в детском отделении Клиники БГМУ, в пульмонологическом и аллергологическом отделениях Городской клинической больницы № 21 г. Уфы. В качестве контрольной группы обследовали группу практически здоровых лиц от 2 до 68 лет (средний возраст 25.42 лет), сопоставимых по возрасту, полу и этнической принадлежности с больными и не имеющих отягощенной наследственности (русские – 109, татары – 54, башкиры – 53). Генотипирование ОНП rs2305480 проводили с помощью ПЦР со специфическими праймерами (5'-AGACTGCTGCTCATCTCCACACT-3' и 5'-TGCTCACACTTCTCCACCCCA-3') и последующей рестрикцией эндонуклеазой HinfI (rs2305480*G – 221 п.н.; rs2305480*A – 145 и 76 п.н.). Генотипирование полиморфного варианта rs2290400 осуществляли с помощью ПЦР со специфическими праймерами (5'-GGGTTTCTCTCTT-TACCGTCTCCA-3' и 5'-ACCGTACCTGGC-STCTCACCC -3') и последующей рестрикцией эндонуклеазой MboII (rs2290400*T – 82, 111 и 120 п.н.; rs2290400*C – 51, 69, 82 и 111 п.н.). Праймеры подбирали с помощью программы Primer3 v. 0.4.0 [15]. Результаты ПЦР-ПДФ-анализа оценивали с помощью вертикального электрофореза в 7%-ом полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете. ОНП rs7216389 генотипировали с использованием TaqMan® SNP Genotyping Assays C_29062108_10 и TaqMan® Genotyping Master Mix (“Applied Biosystems”) согласно протоколу фирмы-производителя с помощью системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96™ (“BioRad”). Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ: MS Office Excel 2003, STATISTICA v.6.0. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и в контроле использовали критерий $\chi^2(p)$ для таблиц сопряженности 2×2 . Силу ассоциаций оценивали с помощью показателя соотношения шансов Odds Ratio (OR) [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с бронхиальной астмой

Успешное проведение полногеномного анализа ассоциаций требует формирования многочисленных выборок (больные и контроль), подобранных по полу, возрасту и этнической принадлежности. В нашей работе выборка была генетически гетерогенной, в нее входили представители трех этнических групп (русские, татары и башкиры), которые сформировались на основе различных популяций западно- и восточноевразийского происхождения. Смешанное происхождение выборки, отличия в частотах аллелей полиморфных маркеров в этнических группах и разная представленность индивидов из различных этносов в выборках могут привести к случайной ассоциации маркеров с заболеванием. Учитывая сказанное, мы сделали поправку на генетическую гетерогенность групп больных и контроля методом EIGENSTRAT [10]. Этот метод основан на вычислении главных компонент генетической изменчивости в выборках. Установив оси генетической изменчивости выборки, обусловленные популяционной структурой, но не связанные с заболеванием, метод позволяет оценить вес каждого маркера в определении той или иной оси и ввести индивидуальную поправку для каждого маркера-кандидата. Это минимизирует появление ложноположительных ассоциаций в силу генетической гетерогенности выборки и одновременно увеличивает вероятность определения достоверных ассоциаций.

После проведения всех этапов контроля качества и корректировки генетической стратификации 550915 ОНП, генотипированных у 330 больных БА (141 русский, 120 татар, 69 башкир) и 348 индивидов контрольной группы (145 русских, 111 татар, 92 башкира), отобрали для анализа ассоциации с БА. Группа больных детской астмой (возраст к началу заболевания менее 18 лет) состояла из 269 человек (русские – 115 татары – 100, башкиры – 54). У 61 больного (БА с поздней манифестацией), среди которых было 26 русских, 20 татар и 15 башкир, заболевание началось в возрасте 18 лет и старше. У 33 индивидов наблюдалось легкое интермиттирующее течение заболевания, у 62 – легкое персистирующее, у 166 – среднетяжелое и у 69 человек – тяжелое течение БА.

Результаты полногеномного анализа ассоциации БА в Волго-Уральском регионе России представлены в табл. 1 и на рис. 1. Установлена статистически значимая ассоциация ОНП, локализованных на длинном плече хромосомы 17 в области 17q12-q21, с развитием БА. Пять ОНП были ассоциированы с БА с полногеномным уровнем значимости $p \leq 4.79 \times 10^{-7}$ (rs9303277, rs8067378, rs2290400, rs7216389, rs4795405) и локализованы в интервале, охватывающем приблизительно

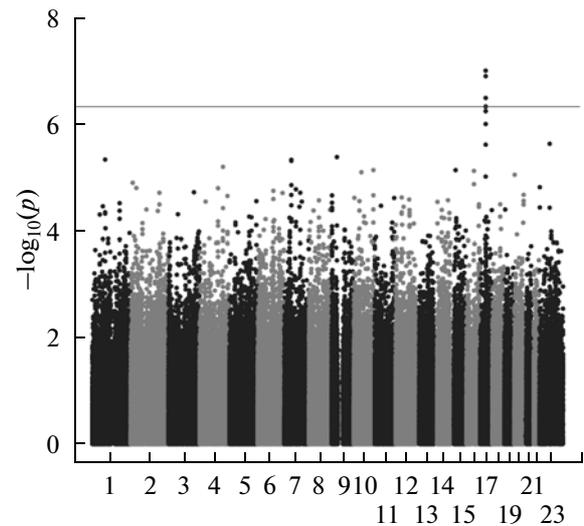


Рис. 1. Графическое изображение результатов полногеномного анализа ассоциации 550 915 ОНП с бронхиальной астмой в Волго-Уральском регионе России (Manhattan plot). На оси X указана хромосомная локализация ОНП, на оси Y – значения отрицательного десятичного логарифма уровня значимости P -value. Горизонтальная черта соответствует принятому в данной работе пороговому уровню значимости, при котором доля ожидаемых ложноположительных результатов равна 5% (5% FDR).

112 т.п.н. области 17q12-q21. На этом же участке хромосомы расположен еще ряд локусов, находящихся с перечисленными в неравновесии по сцеплению и ассоциированных с БА с уровнем значимости $p \leq 1.02 \times 10^{-6}$, что соответствует 10%-му уровню ложноположительных результатов, определенному с помощью функции q value. В этой области хромосомы 17 локализованы несколько генов – *ORMDL3*, *GSDMB*, *ZPBP2* и *IKZF3*.

Ген *ORMDL3* (orosomuroid 1 like 3) кодирует трансмембранный белок эндоплазматического ретикулума *ORMDL3*, который входит в семейство оросомукоид-подобных белков и синтезируется во многих тканях, включая клетки печени и лимфоциты крови. Белки *ORM* регулируют синтез сфинголипидов, изменения в экспрессии генов *ORM* или мутации в сайтах фосфорилирования этих белков приводят к нарушению регуляции метаболизма сфинголипидов и, как предполагается, могут быть связаны с развитием БА [17].

Ген *GSDMB* кодирует гасдермин В, который входит в семейство белков с гасдерминовым доменом. Эти белки участвуют в различных клеточных процессах, связанных с развитием и прогрессией опухолей, таких как дифференцировка, контроль клеточного цикла, апоптоз [18]. Ген *GSDMB* экспрессируется в эпителиальных клетках, лимфоцитах, желудке, кишечнике, печени, легких,

Таблица 1. Ассоциация однонуклеотидных полиморфных вариантов, локализованных в области 17q12-q21, с бронхиальной астмой (БА)

Ген	ОНП	Алель 1 повышен- ного риска	Алель 2	Общая группа			Детская БА			БА с поздней манифестацией		
				частота аллеля 1 у больных, в контроле	<i>P</i>	<i>OR</i>	частота аллеля 1 у больных, в контроле	<i>P</i>	<i>OR</i>	частота аллеля 1 у больных, в контроле	<i>P</i>	<i>OR</i>
<i>ZNFN1A3</i>	rs9303277	C	T	0.579, 0.442	4.79×10^{-7}	1.74	0.569, 0.442	9.97×10^{-6}	1.67	0.623, 0.431	4.0×10^{-4}	2.18
<i>ZPBP2</i>	rs12150079	G	A	0.714, 0.611	6.93×10^{-5}	1.59	0.710, 0.611	3.0×10^{-4}	1.56	0.733, 0.610	0.0187	1.76
<i>ZPBP2</i>	rs11557467	G	T	0.591, 0.455	5.83×10^{-7}	1.73	0.584, 0.455	7.63×10^{-6}	1.68	0.623, 0.438	6.8×10^{-4}	2.12
<i>ZPBP2</i>	rs2872507	G	A	0.630, 0.503	2.48×10^{-6}	1.69	0.625, 0.503	2.16×10^{-5}	1.64	0.656, 0.489	0.0021	1.99
<i>GSDMB</i>	rs8067378	A	G	0.592, 0.453	3.29×10^{-7}	1.75	0.584, 0.453	6.01×10^{-6}	1.69	0.631, 0.438	3.9×10^{-4}	2.19
<i>GSDMB</i>	rs2305480	G	A	0.636, 0.504	1.02×10^{-6}	1.72	0.630, 0.504	1.09×10^{-5}	1.67	0.664, 0.489	0.0013	2.06
<i>GSDMB</i>	rs2290400	T	C	0.597, 0.453	1.29×10^{-7}	1.79	0.590, 0.453	2.28×10^{-6}	1.73	0.631, 0.431	2.3×10^{-4}	2.26
<i>GSDMB</i>	rs7216389	T	C	0.595, 0.450	1.01×10^{-7}	1.80	0.587, 0.450	1.97×10^{-6}	1.74	0.631, 0.427	1.8×10^{-4}	2.29
<i>ORMDL3</i>	rs4795405	C	T	0.643, 0.507	4.75×10^{-7}	1.75	0.637, 0.507	6.12×10^{-6}	1.70	0.672, 0.474	2.7×10^{-4}	2.27

мышцах, головном мозге, матке и других органах. Роль гасдермина В в развитии БА ясна не до конца, однако известно, что он принимает участие в терминальной дифференцировке эпителиальных клеток [19].

Ген *ZPBP2* (zona pellucida binding protein-like) кодирует белок ZPBPL, подобный белку ZPBP, он вовлечен во взаимодействие гамет при оплодотворении [20]. Ген *ZPBP2* экспрессируется в яйцках, герминативных опухолях и в продолговатом мозге.

Ген *IKZF3* (IKAROS family zinc finger 3) кодирует ДНК-связывающий белок из семейства Ikaros. Продукт гена *IKZF3* – гемопоэтический фактор транскрипции, участвующий в регуляции пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов [21].

В нашей выборке (больные и контроль) наиболее высокий уровень ассоциации БА показал ОНП rs7216389 (3621С > Т), расположенный в первом интроне гена *GSDMB* ($p = 1.01 \times 10^{-7}$). Как уже сказано, впервые ассоциация между локусом 17q12-q21 и детской БА выявлена Moffatt M. и соавт. в 2007 г. [5]. В этой работе, как и в нашей, обнаружена максимальная ассоциация БА с полиморфным маркером rs7216389. Ассоциация этого ОНП с уровнем экспрессии гена *ORMDL3* установлена в клеточной линии трансформированных вирусом Эпштейна-Барр лимфобластов больных БА. Полиморфный локус rs7216389 расположен в консервативной последовательности, высокоомологичной гену провоспалительного фактора транскрипции С/ЕВРβ (ССААТ/энхансер-связывающий белок β), вовлеченному в регуляцию клеточной дифференцировки, клеточного цикла и экспрессии генов цитокинов [5].

В дальнейшем обнаружили, что ОНП из области 17q12-q21 ассоциированы с уровнем экспрессии не только гена *ORMDL3*, но и *GSDMB* и *ZPBP2* [22–24]. С целью идентификации функционально значимых вариантов, изменяющих уровень экспрессии этих генов, проведен комплексный функциональный анализ и ресеквенирование интересующей области [23]. Среди ОНП, входящих в гаплотип, ассоциированный с БА и с аллельной экспрессией генов *GSDMB*, *ORMDL3* и *ZPBP2* в линиях лимфобластов (YRI, NapMap), выявлен ОНП rs12936231, изменяющий последовательность предполагаемого сайта связывания ДНК с белком-инсулятором CTCF. По этому ОНП определены аллель-специфичные различия в распределении нуклеосом, аллель-специфичная ассоциация с белком CTCF, вовлеченным в сборку хроматина и перестановку нуклеосом. Предполагается, что различные аллели rs12936231 приводят к формированию альтернативных конформаций хромосомной области 17q12-q21, и ассоциированный с БА гаплотип (несущий аллель С по

rs12936231) способствует 2–4-кратному повышению экспрессии *GSDMB* и *ORMDL3* и 2-кратному снижению экспрессии *ZPBP2* [23]. Таким образом, ОНП данной области могут влиять на состояние хроматина и изменять регуляцию активности генов, а развитие предрасположенности к БА может быть связано как с изменениями экспрессии одного из генов этого региона, так и с комбинированным эффектом нескольких транскриптов.

К настоящему времени ассоциацию полиморфных локусов, расположенных в области 17q12-q21, с БА и атопией изучали в различных популяциях. Ассоциация с детской астмой выявлена у японцев [25], китайцев [26], корейцев [27], мексиканцев [28], французов [29, 30], шотландцев [31], датчан [32], исландцев [24], англичан [33], а также у индивидов европеоидного происхождения из различных стран, входящих в состав объединенной выборки консорциума GABRIEL [7]. Роль ОНП из области 17q12-q21 в развитии БА установлена также в семейной франко-канадской выборке [34], у американцев европеоидного происхождения [35, 36] и в Австралии [37]. У русских жителей Западной Сибири при полногеномном анализе не обнаружено ассоциации ОНП из области 17q12-q21 с развитием БА и других аллергических заболеваний [38]. Не выявлено ассоциации ОНП из области 17q12-q21 с развитием БА у афроамериканцев [35, 36]. В то же время, у афроамериканцев и мексиканцев найдена ассоциация с двумя ОНП из области 17q12-q21 (rs4378650 и rs12603332), но не с ОНП rs7216389, что, возможно, связано с межпопуляционными различиями в структуре неравновесия по сцеплению между ОНП [39].

В большинстве работ, проведенных на различных популяциях, наиболее значимую ассоциацию с БА показал ОНП rs7216389. Частота встречаемости аллеля rs7216389*Т у больных БА из Волго-Уральского региона была значительно выше (59.55%), чем в контрольной группе – 45.04% ($p = 1.01 \times 10^{-7}$) (табл. 1). Показатель соотношения шансов развития БА у носителей аллеля rs7216389*Т составил 1.8 (CI95% 1.45–2.23), rs7216389*С – 0.56 (CI95% 0.45–0.69). Гомозиготный генотип rs7216389*Т/Т в группе больных БА определен в 37.27% случаев и в 21.87% – в контроле ($p = 1.2 \times 10^{-5}$, OR = 2.12 (CI95% 1.51–2.98)). Частота встречаемости аллеля rs7216389*Т у больных БА и в контрольной группе из Волго-Уральского региона была сходна с частотой у индивидов европейского происхождения: англичан (61.7% у больных и 49.7% в контроле), немцев (57 и 47.3%), шотландцев (56 и 46%), американцев северно-европейского происхождения (54.9 и 50.9%) [5, 31, 35]. У лиц азиатского и афроамериканского происхождения аллель rs7216389*Т встречался с более высокой частотой как среди

астматиков, так и в контрольных группах: 78.2 и 71.3% у японцев, 80.3 и 76.8% у китайцев, 83.8 и 78.4% у афроамериканцев [25, 26, 39].

Поскольку наши выборки были этнически гетерогенными, мы провели анализ ассоциации БА с учетом этнической принадлежности, чтобы оценить эффективность и достоверность результатов полногеномного анализа ассоциации в объединенной группе больных БА и здоровых индивидов (контроль) с коррекцией на популяционную гетерогенность. Наиболее выраженная ассоциация БА с ОНП, локализованными в области 17q12-q21, выявлена у русских. Как и при анализе ассоциации объединенной группы, с самым высоким уровнем значимости ассоциирован rs7216389 ($p = 2.146 \times 10^{-5}$; OR_T (OR для аллеля T) = 2.07 (CI95% 0.35–0.68)). У башкир также обнаружена ассоциация ОНП области 17q12-q21 с БА – ОНП rs7216389 ассоциирован с уровнем значимости $p = 0.0043$ ($OR_T = 1.92$ (CI95% 1.18–2.88)). Отличия в частотах аллелей ОНП из области 17q12-q21 у татар, больных БА, и в контрольной группе были менее выражены, уровень значимости для ОНП rs7216389*Т составил 0.049 ($OR_T = 1.45$ (CI95% 0.99–2.09)). Таким образом, анализ ассоциации полиморфных вариантов области 17q12-q21, выполненный с учетом этнической принадлежности, показал, что ассоциация, установленная нами с полногеномным уровнем значимости на объединенной группе больных и контроля, наблюдается с различной степенью выраженности и в отдельных этнических группах – среди русских, татар и башкир, что соответствует данным [6, 7, 25, 26, 35, 38], согласно которым эта область ассоциирована с БА в популяциях европеоидного и азиатского происхождения.

Анализ ассоциации бронхиальной астмы с полиморфными локусами, локализованными в области 17q12-q21, с учетом возраста манифестации и тяжести заболевания

Этиопатогенетические причины развития БА различаются в разные периоды жизни: в детском возрасте ведущую роль играют механизмы IgE-зависимого аллергического воспаления, у взрослых БА чаще имеет инфекционно-зависимую, профессиональную или смешанную природу. Учитывая, что в нашу группу входили индивиды, у которых заболевание началось в разном возрасте, мы проанализировали ассоциацию полиморфных вариантов области 17q12-q21 в подгруппах с детской БА (манифестация в возрасте < 18 лет) и с БА с поздней манифестацией (≥ 18 лет) (табл. 1). Выявленные различия в распределении частот аллелей ОНП из данной области обнаружены в обеих подгруппах. Наиболее высокий уровень ассоциации и с детской БА, и с БА с поздней манифестаци-

ей установлен для ОНП rs7216389 ($p = 1.97 \times 10^{-6}$ и $p = 1.8 \times 10^{-4}$ соответственно). У больных с ранним началом заболевания аллель rs7216389*Т определен в 58.7% случаев ($OR = 1.74$ (CI95% 1.38–2.18)), во второй подгруппе больных – в 63.1% случаев ($OR = 2.29$ (CI95% 1.4–3.11)). В большинстве ранее проведенных исследований показана ассоциация этой области только с БА, дебютировавшей в детском возрасте [5, 7, 24–33]. В то же время, как и в нашей работе, ассоциация ОНП области 17q12-q21 с БА у американцев северо-европейского происхождения не зависела от возраста к началу заболевания [36]. Подобные отличия могут быть связаны с особенностями критериев диагностики БА в разных странах, осторожностью и нежеланием врачей ставить диагноз этого заболевания в детском возрасте. В России отмечается гиподиагностика данной патологии, в связи с чем можно предположить, что в нашу группу больных, у которых БА началась после 18 лет, вошли, хотя бы частично, лица, у которых с детства могли наблюдаться слабо выраженные астма-подобные симптомы, более отчетливо проявившиеся в дальнейшем в связи с отсутствием необходимого лечения, и под воздействием дополнительных вредных факторов окружающей среды (курения, профессиональных поллютантов и др.).

БА отличается многообразием клинических и функциональных проявлений, различной тяжестью и контролируемостью течения заболевания. Нами проведен анализ ассоциации полиморфных вариантов области 17q12-q21 с тяжестью заболевания в группах с легкой (объединяющей больных с легкой интермиттирующей и легкой персистирующей БА), средней и тяжелой степенью заболевания. Наиболее высокая частота аллеля rs7216389*Т (61.6%) наблюдалась у больных с тяжелой формой заболевания ($p = 3.8 \times 10^{-4}$; $OR = 1.96$ (CI95% 1.35–2.85)). У больных со средней и тяжелой БА частота данного аллеля составляла 59.0% ($p = 2.8 \times 10^{-5}$; $OR = 1.76$ (CI95% 1.35–2.29)), у больных с легкой БА – 58.9% ($p = 6.9 \times 10^{-4}$; $OR = 1.75$ (CI95% 1.26–2.43)). Более выраженные отличия между подгруппами с различной тяжестью БА выявлены при анализе частоты встречаемости генотипа rs7216389*Т/Т. Его частота у больных с тяжелым течением БА составляла 42.03% ($p = 0.0004$; $OR = 2.59$ (CI95% 1.51–4.46)), со средним – 36.75% ($p = 3.7 \times 10^{-4}$; $OR = 2.08$ (CI95% 1.38–3.12)), с легким – 34.74% ($p = 0.01$; $OR = 1.9$ (CI95% 1.16–3.12)). Сходная тенденция к увеличению частоты аллелей и генотипов повышенного риска при переходе от легкой к тяжелой степени БА обнаружена и для других ОНП, находящихся в неравновесии по сцеплению с rs7216389. Наши результаты согласуются с недавно опубликованными данными, которые показали, что ОНП rs7216389 ассоциирован с тяжелой, плохо

подающейся терапии формой БА у индивидов европейского происхождения [24, 31, 33].

Ассоциация гаплотипов полиморфных локусов, локализованных в области 17q12-q21, с развитием бронхиальной астмы

Анализ неравновесия по сцеплению полиморфных локусов, локализованных в области 17q12-q21, показал, что большинство ОНП, ассоциированных с БА с высоким уровнем значимости, расположены в одном гаплотипическом блоке, охватывающем примерно 93 т.п.н. (рис. 2). Исключение составил rs4795405, не входящий в данный блок и локализованный на расстоянии 18.4 т.п.н. от ОНП rs7216389. Структура неравновесия по сцеплению между ОНП этой области в нашей выборке была сходной со структурой в популяциях европеоидов (CEU) и азиатских монголоидов (китайцев и японцев, CHB+JRT) и отличалась от африканской популяции (YRI) из проекта НарМар. Проведен анализ ассоциации гаплотипов восьми полиморфных локусов, ассоциированных с БА и находящихся в одном гаплотипическом блоке в выраженном неравновесии по сцеплению друг с другом ($D' > 0.99$) (rs9303277, rs12150079, rs11557467, rs2872507, rs8067378, rs2305480, rs2290400, rs7216389) (табл. 2). Выявлено пять гаплотипов, встречающихся с частотой более 1%. Обнаружено, что маркером повышенного риска развития БА является наиболее распространенный гаплотип CGGGAGTT, частота которого у больных БА значительно выше, чем в контрольной группе (57.6 и 43.6% соответственно) ($p = 2.77 \times 10^{-7}$, $OR = 1.76$ (CI95% 1.42–2.18)). Этот гаплотип по генотипированным локусам был идентичен гаплотипу, ассоциированному с повышенным уровнем экспрессии генов *GSDMB* и *ORMDL3* и пониженным уровнем экспрессии гена *ZPBP2* в клеточных линиях лимфоцитов, полученных от индивидов европейского происхождения (CEU, НарМар) [23]. У афроамериканцев (YRI, НарМар) гаплотип, ассоциированный с экспрессией генов *GSDMB*, *ORMDL3* и *ZPBP2*, имеет меньшую протяженность и охватывает только 22.2 т.п.н. области 17q12-q21 [23]. Второй по частоте встречаемости гаплотип TATAGACC оказался маркером пониженного риска развития БА: в контрольной группе его частота составила 38.5%, у больных БА – 27.7% ($p = 2.68 \times 10^{-5}$, $OR = 0.61$ (CI95% 0.49–0.8)). Эта ассоциация наблю-

дается и при манифестации БА в детском возрасте ($p = 5.27 \times 10^{-6}$, $OR = 1.69$ (для гаплотипа CGGGAGTT)), и при позднем развитии заболевания ($p = 1.86 \times 10^{-4}$, $OR = 2.28$ (CGGGAGTT)). Не выявлено выраженных различий в распределении частот гаплотипов у больных с разной степенью тяжести БА. Частота гаплотипа повышенного риска CGGGAGTT у больных с тяжелой БА составила 60.1%, со среднетяжелой – 58.2%, с легкой – 59%.

Таким образом, анализ гаплотипов ОНП, расположенных в области 17q12-21, указывает на тесное неравновесие по сцеплению между ОНП и значимую ассоциацию гаплотипов с развитием БА в Волго-Уральском регионе России, а также на сходство выявленного нами гаплотипа повышенного риска с гаплотипом у лиц европейского происхождения, что еще раз подтвердило не только роль данной хромосомной области в развитии БА, но и возможность существования древнего источника происхождения функционального варианта, входящего в данный гаплотип и широко распространившегося в различных популяциях, в том числе в этнических группах Волго-Уральского региона России.

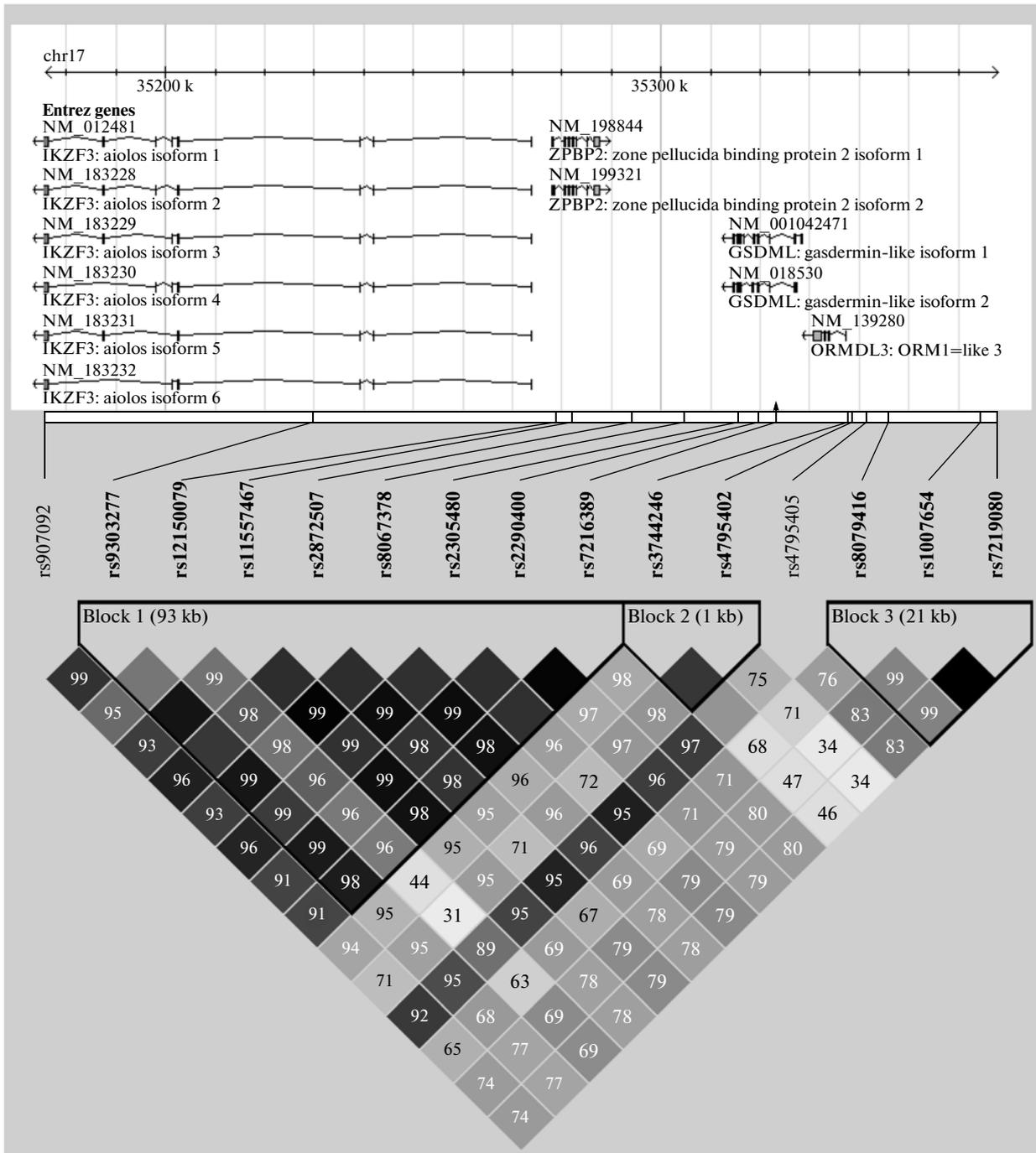
Репликация результатов полногеномного анализа ассоциации

Для подтверждения ассоциации полиморфных ДНК-локусов, локализованных в области 17q12-q21, с развитием БА в Волго-Уральском регионе России, нами проведен анализ трех ОНП гена *GSDMB* (rs2305480, rs2290400, rs7216389) в независимой выборке больных БА и у лиц контрольной группы (русские, татары и башкиры). По результатам полногеномного исследования ОНП rs2290400, rs7216389, расположенные в интронах 1 и 2 гена *GSDMB*, показали наиболее высокий уровень ассоциации с БА в Волго-Уральском регионе. ОНП rs2305480 (11374C > T (289P > S)) локализован в экзоне 6 гена *GSDMB* и находится в сильном неравновесии по сцеплению с маркерами rs2290400 и rs7216389.

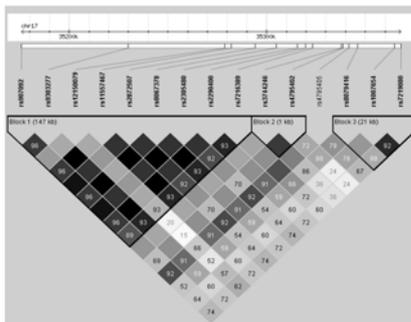
Распределение частот генотипов ОНП rs2305480, rs2290400, rs7216389 в новой выборке больных и в контроле соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Частоты аллелей и генотипов ОНП rs7216389 и rs2290400 оказались сходными с частотами в выборке, использованной при полногеномном анализе ассоциации. Поли-

Рис. 2. Структура неравновесия по сцеплению между полиморфными локусами, локализованными в области 17q12-q21 (NarView 4.2). Черными линиями очерчены гаплотипические блоки. В ячейках указаны значения коэффициента неравновесия по сцеплению D' (в ячейках без указанных значений $D' = 1$). Различные оттенки серого цвета отображают силу неравновесия по сцеплению между ОНП. *a* – Анализ LD в выборке из Волго-Уральского региона России. В верхней части рисунка показана локализация ОНП в генах *IKZF3*, *ZPBP2*, *GSDMB* (*GSDML*), *ORMDL3*. *б* – LD в европейских популяциях (CEU, НарМар). *в* – LD в азиатских популяциях (CHB+JRT). *г* – LD в африканских популяциях (YRI, НарМар).

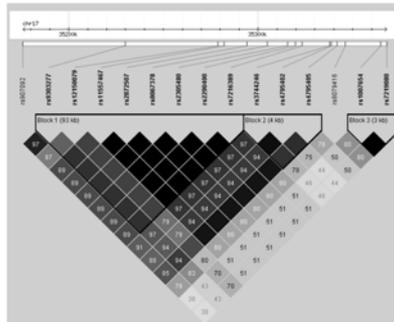
a



б



в



г

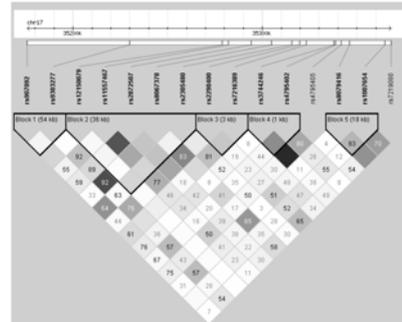


Таблица 2. Ассоциация гаплотипов полиморфных локусов, локализованных в области 17q12-q21, с бронхиальной астмой (БА)

ОНП	Гаплотип								Общая группа			Детская БА			БА с поздней манифестацией		
	rs9303277	rs12150079	rs11557467	rs2872507	rs8067378	rs2305480	rs2290400	rs7216389	частота гаплотипа у больных, в контроле	<i>P</i>	<i>OR</i>	частота гаплотипа у больных, в контроле	<i>P</i>	<i>OR</i>	частота гаплотипа у больных, в контроле	<i>P</i>	<i>OR</i>
1	C	G	G	G	A	G	T	T	0.576, 0.436	2.77×10^{-7}	1.76	0.567, 0.436	5.27×10^{-6}	1.69	0.623, 0.420	1.86×10^{-4}	2.28
2	T	A	T	A	G	A	C	C	0.277, 0.385	2.68×10^{-5}	0.61	0.280, 0.385	1.0×10^{-4}	0.62	0.258, 0.390	0.0114	0.53
3	T	G	T	A	G	A	C	C	0.088, 0.109	0.1882		0.089, 0.109	0.261		0.078, 0.121	0.1959	
4	T	G	T	G	G	G	C	C	0.038, 0.048	0.3559		0.041, 0.048	0.5382		0.025, 0.051	0.2296	
5	T	G	G	G	A	G	T	T	0.009, 0.013	0.4692		0.011, 0.013	0.7358		0.000, 0.007	0.3441	

морфный локус rs7216389*Т ассоциирован с БА с уровнем значимости $p = 0.0059$ ($OR = 1.46$ (CI95% 1.12–1.92)), ОНП rs2290400 – с уровнем значимости $p = 0.0047$ ($OR_T = 1.48$ (CI95% 1.13–1.94)). Различия в распределении частот аллелей полиморфного варианта rs2305480 у больных и в контроле оказались статистически незначимыми ($p = 0.1583$). Анализ ассоциации гаплотипов по трем ОНП гена гасдермина В с БА показал, что гаплотип GTT (rs2305480, rs2290400, rs7216389), определенный с частотой 56.6% у больных и 46.3% в контрольной группе, является маркером повышенного риска развития БА ($p = 0.0028$).

Анализ ассоциации трех ОНП гена *GSDMB*, проведенный с учетом возраста к началу заболевания, выявил различия в распределении частот аллелей всех трех локусов у больных детской БА и в контрольной группе: rs7216389 ($p = 0.0029$; $OR_T = 1.59$ (1.17–2.18)), rs2290400 ($p = 0.0021$; $OR_T = 1.62$ (CI95% 1.19–2.21)), rs2305480 ($p = 0.0451$; $OR_T = 1.37$ (1.01–1.88)). Гаплотип GTT (rs2305480, rs2290400, rs7216389) у больных детской БА встречался на 59.5% хромосом, в контроле – на 46.3% ($p = 0.0007$). У больных с поздней манифестацией заболевания частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов гена *GSDMB* не отличались статистически значимо от частот аллелей и генотипов данных локусов в контрольных группах ($p > 0.05$). Учитывая, что в независимой выборке больных и индивидов контрольной группы не подтверждена ассоциация полиморфных вариантов гена *GSDMB* с развитием БА в возрасте ≥ 18 лет, можно сделать вывод о том, что полиморфные локусы, локализованные в области

17q12-q21, имеют более важное значение в развитии БА в детском возрасте.

В проведенной работе не выявлено ни одного локуса, кроме 17q12-q21, ассоциированного с БА с полногеномным уровнем значимости. Более 50 ОНП оказались ассоциированными с БА с уровнем значимости порядка 1×10^{-6} . В дальнейшем для уточнения полученных результатов мы планируем изучить ряд дополнительных ОНП на расширенных независимых выборках.

Таким образом, полногеномное исследование БА в Волго-Уральском регионе России выявило ассоциацию с ОНП из области 17q12-q21. Эта область – одна из наиболее значимых в развитии БА в популяциях различного этнического происхождения. По результатам проведенных до настоящего времени GWAS ассоциация БА именно с этой областью многократно подтверждена различными исследовательскими группами, что однозначно свидетельствует о роли локализованных в ней генов в развитии этого многофакторного заболевания. До проведения первого GWAS ни один из этих генов не относили к генам-кандидатам БА, и только благодаря “свободному от гипотез” полногеномному подходу была открыта еще одна область генома, ассоциированная с развитием БА. Необходимо отметить, что различные ОНП, локализованные в области 17q12-21, ассоциированы с развитием не только БА, но и болезни Крона, сахарного диабета типа 1 и первичного цирроза печени [40–42]. Все эти заболевания характеризуются нарушениями воспалительного ответа, что свидетельствует о важной роли 17q12-q21 в развитии воспаления в целом и еще раз подчеркивает ведущее значение механизмов, способствующих раз-

виту хронического воспаления в дыхательных путях, в патогенезе БА.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Европейской Комиссии в рамках проекта GABRIEL (контракт № LSHB-СТ-2006-018996) и Минобрнауки России: (госконтракт № 02.434.11.7115 от 18.08.2006, госконтракт № П601 от 18.05.2010, госконтракт № 16.512.11.2032 от 14.02.2011).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2010. <http://www.ginasthma.org>.
- Глобальная стратегия по лечению и профилактике бронхиальной астмы (GINA). Пересмотр 2006: Пер. с англ. Под ред. Чучалина А.Г. М: Изд. дом "Атмосфера"; 2007.
- Holloway J.W., Yang I.A., Holgate S.T. 2010. Genetics of allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, 81–94.
- Manolio T.A. 2010. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N. Engl. J. Med.* **363**, 166–176.
- Moffatt M.F., Kabesch M., Liang L., et al. 2007. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature.* **448**, 470–473.
- Akhabir L., Sandford A.J. 2011. Genome-wide association studies for discovery of genes involved in asthma. *Respirology.* **16**(3), 396–406.
- Moffatt M.F., Gut I.G., Demenais F., et al. 2010. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N. Engl. J. Med.* **363**(13), 1211–1221.
- Руководство по диагностике, лечению и профилактике бронхиальной астмы. 2005. Ред. Чучалин А.Г. М.: НТЦ КВАН.
- Mathew C.C. 1984. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA. In: *Methods in molecular biology*. Ed. Walker J.M. N.Y.: Humana press. **2**, 31–34.
- Price A.L., Patterson N.J., Plenge R.M., et al. 2006. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat. Genet.* **38**(8), 904–909.
- Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., et al. 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Am. J. Hum. Genet.* **81**, 559–575.
- Benjamini Y., Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. R. Stat. Soc. Ser.* **57**, 289–300.
- Storey J.D., Tibshirani R. 2003. Statistical significance for genomewide studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **100**(16), 9440–9445.
- Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M.J. 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* **21**, 263–265.
- Rozen S., Skaletsky H.J. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: *Bioinformatics methods and protocols: Methods in molecular biology*. Eds Krawetz S., Misener S. Totowa, N.J.: Humana Press, 365–386. <http://fokker.wi.mit.edu/primer3/>.
- Schlesselman J. 1982. Case-control studies. Design, conduct, analysis. N.Y., Oxford: Oxford Univ. Press, 58–96.
- Breslow D.K., Collins S.R., Bodenmiller B., et al. 2010. Orm family proteins mediate sphingolipid homeostasis. *Nature.* **463**, 1048–1053.
- Tamura M., Tanaka S., Fujii T., et al. 2007. Members of a novel gene family, *Gsdm*, are expressed exclusively in the epithelium of the skin and gastrointestinal tract in a highly tissue-specific manner. *Genomics.* **89**, 618–629.
- Carl-McGrath S., Schneider-Stock R., Ebert M., Rocken C. 2008. Differential expression and localisation of gasdermin-like (GSDML), a novel member of the cancer-associated GSDMDC protein family, in neoplastic and nonneoplastic gastric, hepatic, and colon tissues. *Pathology.* **40**, 13–24.
- Katoh M., Katoh M. 2003. Identification and characterization of human *ZPBP-like* gene *in silico*. *Int. J. Mol. Med.* **12**, 399–404.
- Schmitt C., Tonnelle C., Dalloul A., et al. 2002. Aiolos and Ikaros: regulators of lymphocyte development, homeostasis and lymphoproliferation. *Apoptosis.* **7**, 277–284.
- Cookson W., Liang L., Abecasis G., et al. 2009. Mapping complex disease traits with global gene expression. *Nat. Rev. Genet.* **10**, 184–194.
- Verlaan D.J., Berlivet S., Hunninghake G.M., et al. 2009. Allele-specific chromatin remodeling in the *ZPBP2/GSDMB/ORMDL3* locus associated with the risk of asthma and autoimmune disease. *Am. J. Hum. Genet.* **85**, 377–393.
- Halapi E., Gudbjartsson D.F., Jonsdottir G.M., et al. 2010. A sequence variant on 17q12-q21 is associated with age at onset and severity of asthma. *Eur. J. Hum. Genet.* **18**, 902–908.
- Hirota T., Harada M., Sakashita M., et al. 2008. Genetic polymorphism regulating *ORM1-like 3* (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population. *J. Allergy Clin. Immunol.* **121**(3), 769–770.
- Leung T.F., Sy H.Y., Ng M.C., et al. 2009. Asthma and atopy are associated with chromosome 17q12-q21 markers in Chinese children. *Allergy.* **64**(4), 621–628.
- Yu J., Kang M.J., Kim B.J., et al. 2011. Polymorphisms in *GSDMA* and *GSDMB* are associated with asthma susceptibility, atopy and BHR. *Pediatr. Pulmonol.* Feb 18. doi: 10.1002/ppul.21424.
- Wu H., Romieu I., Sienra-Monge J.J., et al. 2009. Genetic variation in *ORM1-like 3* (*ORMDL3*) and gasdermin-like (*GSDML*) and childhood asthma. *Allergy.* **64**(4), 629–635.
- Bouzigon E., Corda E., Aschard H., et al. Effect of 17q12-q21 variants and smoking exposure in early-onset asthma. 2008. *N. Engl. J. Med.* **359**(19), 1985–1994.
- Smit L.A., Bouzigon E., Pin I., et al. 2010. 17q12-q21 variants modify the association between early respiratory infections and asthma. *Eur. Respir. J.* **36**, 57–64.

31. Tavendale R., Macgregor D.F., Mukhopadhyay S., Palmer C.N. 2008. A polymorphism controlling *ORMDL3* expression is associated with asthma that is poorly controlled by current medications. *J. Allergy Clin. Immunol.* **121**(4), 860–863.
32. Bisgaard H., Bønnelykke K., Sleiman P.M., et al. Chromosome 17q12-q21 gene variants are associated with asthma and exacerbations but not atopy in early childhood. 2009. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **179**(3), 179–185.
33. Binia A., Khorasani N., Bhavsar P.K., et al. 2011. Chromosome 17q12-q21 SNP and severe asthma. *J. Hum. Genet.* **56**(1), 97–98.
34. Madore A.M., Tremblay K., Hudson T.J., Laprise C. 2008. Replication of an association between 17q12-q21 SNPs and asthma in a French-Canadian familial collection. *Hum. Genet.* **123**(1), 93–95.
35. Sleiman P.M., Annaiah K., Imielinski M., et al. 2008. *ORMDL3* variants associated with asthma susceptibility in North Americans of European ancestry. *J. Allergy Clin. Immunol.* **122**(6), 1225–1227.
36. Flory J.H., Sleiman P.M., Christie J.D., et al. 2009. 17q12-21 variants interact with smoke exposure as a risk factor for pediatric asthma but are equally associated with early-onset versus late-onset asthma in North Americans of European ancestry. *J. Allergy Clin. Immunol.* **124**(3), 605–607.
37. Ferreira M.A., McRae A.F., Medland S.E., et al. 2011. Association between *ORMDL3*, *IL1RL1* and a deletion on chromosome 17q12-q21 with asthma risk in Australia. *Eur. J. Hum. Genet.* **19**(4), 458–464.
38. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Федорова О.С., и др. 2011. Полногеномный анализ ассоциаций аллергических заболеваний с молекулярными маркерами у русских жителей Западной Сибири. *Молекуляр. биология.* **45** (3), 464–472.
39. Galanter J., Choudhry S., Eng C., et al. 2008. *ORMDL3* gene is associated with asthma in three ethnically diverse populations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **177**(11), 1194–1200.
40. Barrett J.C., Clayton D.G., Concannon P., et al. 2009. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat. Genet.* **41**, 703–707.
41. Barrett J.C., Hansoul S., Nicolae D.L., et al. 2008. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat. Genet.* **40**, 955–962.
42. Hirschfield G.M., Liu X., Xu C., et al. 2009. Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 variants. *N. Engl. J. Med.* **360**, 2544–2555.