

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.24-036.12-08:575.174.015.3(043.3)

ХОТЬКО
Екатерина Александровна

**СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ
РЕЦЕПТОРЫ И ИХ ЛИГАНДЫ, С ВЕРОЯТНОСТЬЮ РАЗВИТИЯ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.01.04 – биохимия

Минск 2021

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Таганович Анатолий Дмитриевич,**
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Прохорова Виолетта Игоревна,**
доктор медицинских наук, профессор, заведующий диагностической лабораторией с группой лучевой диагностики государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова»

Костюк Светлана Андреевна,
доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Защита состоится 4 февраля 2022 года в 13:00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел.: (017) 302 16 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан _____ декабря 2021 года.

Ученый секретарь совета Д 03.18.02,
кандидат медицинских наук, доцент



И.Л. Котович

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности в мире [Zeng et al., 2012]. Более 3 миллионов человек ежегодно умирают от ХОБЛ, что составляет около 6% случаев мировой смертности [WHO, 2021]. По некоторым оценкам количество смертей от этого заболевания к 2030 году составит 5,8 млн человек [May et al., 2015].

В Республике Беларусь заболеваемость находится на уровне 574,1 случая на 100 000 взрослого населения. Причем в 2019 году в стране насчитывалось 43 670 пациентов с ХОБЛ, из которых в 2901 случае этот диагноз был поставлен впервые [РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии, 2020].

Хроническое воздействие сигаретного дыма в промышленно развитых странах и загрязнение воздуха в развивающихся странах являются основными факторами развития и прогрессирования ХОБЛ [Barnes et al., 2003]. Однако снижение легочной функции у пациентов с ХОБЛ нельзя объяснить только воздействием сигаретного дыма или других факторов окружающей среды [Devine et al., 2008]. Рассматривается наличие взаимосвязи ХОБЛ с генетической предрасположенностью к этому заболеванию [Silverman et al., 1998; Silverman et al., 2009].

Посредством полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) было установлено несколько хромосомных локусов, связанных с ХОБЛ [Korytina et al., 2019]. Однако полученные результаты распространялись только на определенные регионы и не могли быть экстраполированы на пациентов, относящихся к другим популяциям. Необходимость стратификации, оценка этнической и половой принадлежности, географического происхождения являются обязательным условием при изучении генетических маркеров. Только так можно избежать ложноположительных результатов наличия генетической ассоциации [The COPD Gene, 2021].

Исследование генов рецепторного аппарата лейкоцитов и их лигандов в крови пациентов с ХОБЛ представляет особый интерес в оценке предрасположенности к развитию заболевания. Их белковые продукты участвуют в направленной миграции клеток крови, активации функциональной способности и формировании очагов хронического воспаления [Wang et al., 2018].

В данной работе приведены результаты исследования, в ходе которого обосновывается целесообразность использования в белорусской популяции полиморфизмов генов CXCL10, CCL5, CXCR3, CXCR4, CCR5, IL4R, IL4, IL6, IL10, TNF α , ESR1, VDR в определении вероятности развития ХОБЛ в зависимости от статуса курения, половой принадлежности и независимо от этих факторов.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами и темами

Тема диссертационной работы соответствует перечню приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы, утвержденному Указом Президента Республики Беларусь от 22 апреля 2015 г. № 166 «О приоритетных направлениях научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016–2020 годы», а именно: «Медицина, фармацевтика, медицинская техника: 4.2 технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний».

Диссертация выполнялась в рамках научно-исследовательской работы кафедры биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» «Молекулярные механизмы развития, мониторинга течения и лечения заболеваний, сопровождающихся склерозированием легочной ткани и злокачественным ростом опухоли» (срок выполнения 2018–2022), задания «Использование полиморфизма генов лимфоцитов периферической крови для разработки подходов к определению риска развития хронической обструктивной болезни легких и прогнозирования течения заболевания» (Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, срок выполнения 2017–2019, № М17М-102).

Цель и задачи исследования

Цель исследования: найти генетические маркеры предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Беларусь и разработать методические подходы к оценке вероятности развития этого заболевания.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи:**

1. Определить частоту мутации генов, кодирующих патогенетически значимые рецепторы лейкоцитов и их лиганды, у пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц – жителей Республики Беларусь.

2. Установить связь полиморфных вариантов генов рецепторов лейкоцитов и их лигандов у мужчин, женщин, курящих и некурящих пациентов с развитием ХОБЛ. Провести отбор риск-ассоциированных полиморфизмов.

3. Проанализировать влияние межгенных взаимодействий в формировании предрасположенности к ХОБЛ и разработать многофакторные модели для прогнозирования вероятности развития заболевания.

4. Оценить прогностическую значимость мультилокусных моделей и разработать методические подходы к прогнозированию ХОБЛ.

Научная новизна

Впервые у пациентов с ХОБЛ и здоровых людей белорусской популяции проведен молекулярно-генетический анализ и дана оценка частоты

распространенности генотипов/аллелей для полиморфных вариантов rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2280964 (CXCR3), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs1801275 (IL4R), rs2243250 (IL4), rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs1800629 (TNF α), rs2234693 (ESR1) и rs731236 (VDR). Выявлены полиморфные локусы, ассоциированные с развитием ХОБЛ у белорусов. Определены генотипы и аллели этих полиморфизмов, повышающие вероятность возникновения заболевания без учета статуса курения и гендерной принадлежности, а также отдельно в зависимости от статуса курения и пола. Также выявлены генотипы, носительство которых снижает вероятность развития заболевания.

Впервые проведен многофакторный анализ генетических маркеров с целью выявления наиболее неблагоприятных комбинаций генотипов однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), носительство которых предрасполагает к развитию ХОБЛ. Получены новые данные о том, что оценка совместного носительства нескольких полиморфных вариантов позволяет увеличить точность прогноза предрасположенности к ХОБЛ. Разработаны мультилокусные модели прогностически значимых комбинаций ОНП для оценки вероятности развития ХОБЛ у мужчин и женщин, курящих и некурящих людей и без учета статуса курения и пола.

Объект и предмет исследования

Объектом исследования были пациенты с ХОБЛ, а также образцы периферической крови, взятые у них и здоровых людей.

Предметом исследования были результаты опроса пациентов с ХОБЛ, оценки у них функции внешнего дыхания, определения полиморфизма генов лейкоцитарных рецепторов и их лигандов.

Положения, выносимые на защиту:

1. У представителей белорусской популяции полиморфизмы генов rs1800896 (IL10), rs1801275 (IL4R), rs1800795 (IL6), rs2280788 (CCL5) и rs2234693 (ESR1) имеют тесную связь с ХОБЛ. При этом для носительства генотипов AA (rs1800896), AG/GG (rs1801275), CG/GG (rs1800795), CG (rs2280788), TC/CC (rs2234693) характерна повышенная вероятность развития ХОБЛ, а для носительства генотипов GG (rs1800896), AA (rs1801275), CC (rs1800795), CC (rs2280788) и TT (rs2234693) – сниженная вероятность возникновения этого заболевания.

2. Курящие люди, которые являются носителями генотипов AA и AG rs1800896 (IL10), GA/AA rs1800629 (TNF α) и TC/CC rs2234693 (ESR1), более подвержены развитию ХОБЛ, а носители генотипов GG (rs1800896), GG (rs1800629) и TT (rs2234693) имеют сниженную вероятность возникновения этого заболевания. У некурящих с повышенным риском развития ХОБЛ ассоциировано носительство генотипов CG rs1800795 (IL6) и AA rs1801275

(IL4R), в то время как носительство генотипов CC (rs1800795) и AG/GG (rs1801275) сопряжено со сниженной вероятностью развития этого заболевания.

3. Мужчины – носители генотипов CC rs2280788 (CCL5), TC/CC rs2234693 (ESR1) и TC rs731236 (VDR) более подвержены развитию ХОБЛ, а у носителей генотипов GG (rs1800896 гена IL10), CG/GG (rs2280788), TT (rs2234693) и TT (rs731236) вероятность развития этого заболевания снижена. У женщин носительство генотипов AA rs1800896 (IL10), CG rs1800795 (IL6), AA rs1801275 (IL4R) и TC rs2234693 (ESR1) ассоциировано с повышенной, а носительство генотипов CC (rs1800795), AG (rs1801275) и TT (rs2234693) – с пониженной вероятностью ХОБЛ.

4. Многофакторный анализ полиморфизмов генов rs1800896 (IL10)/rs1800795 (IL6)/rs2234693 (ESR1)/rs1801275 (IL4R) увеличивает точность прогноза предрасположенности к ХОБЛ. У курящих людей прогностически значимым является сочетанное носительство полиморфизмов rs1800896 (IL10)/rs2234693 (ESR1)/rs1800629 (TNF α), у некурящих – комбинация rs1800795 (IL6)/rs1801275 (IL4R). У мужчин наиболее информативно в определении предрасположенности к ХОБЛ сочетание rs1800896 (IL10)/rs2234693 (ESR1)/rs731236 (VDR)/rs2280788 (CCL5), а у женщин – rs1800795 (IL6)/rs1800896 (IL10)/rs2234693 (ESR1).

Личный вклад соискателя ученой степени

Соискателем совместно с научным руководителем, доктором медицинских наук, профессором А.Д. Тагановичем выбрана тема диссертации, поставлены цель и задачи исследования, определен объем исследований, алгоритмы статистической обработки данных. Научный руководитель также оказывал помощь в анализе и оценке полученных результатов исследования.

Автором самостоятельно выполнен анализ научной литературы, проведены анкетирование 95 пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, и 95 здоровых людей, выделение ДНК из клеток крови, генотипирование полиморфных локусов генов методом полимеразной цепной реакции. Соискателем проведена графическая и статистическая обработка результатов.

По материалам диссертации опубликованы статьи в рецензируемых научных журналах и сборниках материалов конференций, где изложены данные исследований роли полиморфизмов генов в патогенезе ХОБЛ [1], вклад соискателя – 100%; охарактеризованы частоты встречаемости генотипов исследуемых полиморфных локусов генов хемокинов и хемокиновых рецепторов [2, 6, 10, 12, 15, 16, 22], вклад соискателя – 80%; интерлейкинов и их рецепторов [7, 11, 17, 20, 21, 23], вклад соискателя – 80%; регуляторных молекул [13, 18, 19], вклад соискателя – 90%; и их связи с развитием ХОБЛ в популяции белорусов, в том числе в зависимости от статуса курения [5, 13, 24], вклад соискателя – 85%, гендерной принадлежности [3], вклад соискателя –

85%; а также определены прогностические параметры многофакторных моделей для оценки вероятности развития ХОБЛ [4, 8, 9, 14], вклад соискателя – 85%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты диссертационной работы были представлены на XXIX и XXX Европейских конгрессах по болезням органов дыхания (Мадрид, 2019; 2020); научных сессиях Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2018–2020); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине» (Санкт-Петербург, 2020); X юбилейной научно-практической конференции с международным участием «Путь в науку» (Москва, 2021).

Разработаны и утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению «Метод определения вероятности развития хронической обструктивной болезни легких по полиморфизму гена CCL5» (№ 090-0619 от 28.07.2019) и инструкция по применению «Метод многофакторной оценки вероятности развития хронической обструктивной болезни легких» (№ 098-0921 от 05.11.2021) [25, 26].

Результаты диссертационной работы используются в практической деятельности ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии», УЗ «Минская областная клиническая больница» и УЗ «Минский клинический консультативно-диагностический центр», а также в учебном процессе на кафедрах биологической химии и патологической физиологии УО «Белорусский государственный медицинский университет», кафедре общей и клинической биохимии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», что подтверждается актами внедрения.

Опубликование результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано: 8 статей в научных журналах и сборниках, соответствующих пункту 18 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий в Республике Беларусь» (6,0 авторских листов), 6 статей в сборниках научных трудов и материалов конференций (1,3 авторских листа), 10 тезисов докладов (1,2 авторских листа).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 124 страницах печатного текста, состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, 3 глав, содержащих собственные результаты исследования, заключения, библиографического списка, приложений. Библиографический список включает 233 использованных источника, в том числе 218 на иностранном языке. Диссертация иллюстрирована 19 таблицами и 17 рисунками.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Для оценки частот полиморфных вариантов генов в белорусской популяции была сформирована выборка, включавшая 190 человек мужского и женского пола (95 – с ХОБЛ и 95 здоровых людей). Для изучения связей между предполагаемыми генетическими факторами риска и ХОБЛ был выбран дизайн исследования «случай-контроль». Диагноз ХОБЛ устанавливали в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра и с учетом рекомендаций Global initiative for Obstructive Lung Disease. Сбор биологического материала и анкетных данных проводился с соблюдением всех этических норм после подписания опрашиваемыми пациентами формы информированного согласия.

Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови в лаборатории биохимических методов исследования, структурном подразделении Научно-исследовательской части Белорусского государственного медицинского университета. Генотипирование исследуемых выборок по полиморфным локусам осуществлялось методом ПЦР в реальном времени с применением TaqMan-зондов.

Статистическая обработка номинальных данных проводилась с использованием программ Microsoft Excel (Microsoft Corporation, USA) и SPSS версии 23.0 (IBM, USA). Для качественных данных определяли частоты встречаемости в процентах (%). Для нахождения различий между качественными показателями использовали метод χ^2 или точный двусторонний критерий Фишера. Характер ассоциаций генотипов изучаемых генов с возникновением ХОБЛ оценивали с помощью отношения шансов (ОШ) и соответствующего 95%-ного доверительного интервала (95% ДИ). Межгенные взаимодействия при формировании ХОБЛ анализировали в мультилокусных моделях с использованием метода многофакторного уменьшения размерности MDR, программа версии 3.2.0 [URL: <http://www.ssg.uab.edu/mdr>], и его программного расширения GMDR версии 0.9 [URL: <http://www.ssg.uab.edu/gmdr>].

Результаты исследования

Оценка влияния исследуемых полиморфизмов на вероятность развития ХОБЛ. Распределение частот генотипов и аллелей у пациентов и здоровых людей позволило обнаружить статистически значимую разницу для локусов генов CCL5 (rs2280788), CXCR4 (rs2228014), IL10 (rs1800896), IL6 (rs1800795), IL4R (rs1801275) и ESR1 (rs2234693). В дальнейшем среди них выявлялись генотипы и аллели, присутствие которых повышает/понижает вероятность развития ХОБЛ. С этой целью рассчитывались значения ОШ в аддитивной, рецессивной, доминантной и мультипликативной моделях наследования (таблица 1).

Таблица 1. – Вероятность развития ХОБЛ для полиморфных вариантов генов

Ген/rs	Генотип/ Аллель	Частота носительства, %		χ^2 (p)	ОШ	95% ДИ
		Пациенты с ХОБЛ, n=95	Здоровые лица, n=95			
1	2	3	4	5	6	7
IL10 rs1800896	AA ¹	42,1 (40)	21,0 (20)	11,80 (0,003)	2,73	1,44-5,17
	AG	38,9 (37)	43,2 (41)		0,84	0,47-1,50
	GG	19,0 (18)	35,8 (34)		0,42	0,22-0,82
	AA/AG ²	81,1 (77)	64,2 (61)	6,78 (0,010)	2,38	1,23-4,63
	GG	18,9 (18)	35,8 (34)		0,42	0,22-0,82
	AG/GG ³	57,9 (55)	78,9 (75)	9,74 (0,002)	0,37	0,19-0,70
	AA	42,1 (40)	21,1 (20)		2,73	1,44-5,17
	аллель А ⁴	61,6 (117)	42,6 (81)	13,67 ($<0,001$)	2,18	1,43-3,25
аллель G	38,4 (73)	57,4 (109)	0,46		0,31-0,70	
IL4R rs1801275	AA ¹	28,4 (27)	46,3 (44)	8,43 (0,015)	0,46	0,25-0,84
	AG	57,9 (55)	48,4 (46)		1,52	0,83-2,60
	GG	13,7 (13)	5,3 (5)		2,85	0,98-8,35
	AA/AG ²	86,3 (82)	94,7 (90)	0,10 (0,05)	0,35	0,12-1,03
	GG	13,7 (13)	5,3 (5)		2,85	0,98-8,35
	AG/GG ³	71,6 (68)	53,7 (51)	6,50 (0,011)	2,17	1,19-3,96
	AA	28,4 (27)	46,3 (44)		0,46	0,25-0,84
	аллель А ⁴	57,4 (109)	70,5 (134)	7,13 (0,008)	0,56	0,37-0,86
аллель G	42,6 (81)	29,5 (56)	1,78		1,16-2,72	
IL6 rs1800795	CC ¹	19,0 (18)	35,8 (34)	6,88 (0,03)	0,42	0,22-0,82
	CG	52,6 (50)	40,0 (38)		1,66	0,94-2,96
	GG	28,4 (27)	24,2 (23)		1,24	0,65-2,38
	CC/CG ²	71,6 (68)	75,8 (72)	0,43 (0,51)	0,81	0,42-1,54
	GG	28,4 (27)	24,2 (23)		1,24	0,65-2,38
	CG/GG ³	81,1 (77)	64,2 (61)	6,78 (0,010)	2,38	1,23-4,63
	CC	19,0 (18)	35,8 (34)		0,42	0,22-0,82
	аллель С ⁴	45,3 (86)	55,8 (106)	4,83 (0,041)	0,66	0,44-0,98
аллель G	54,7 (104)	44,2 (84)	1,53		1,02-2,29	
CXCR4 rs2228014	GG ¹	84,2 (80)	85,3 (81)	29,01 (0,001)	0,92	0,42-2,03
	GA	15,8 (15)	–		–	–
	AA	–	14,7 (14)		–	–
	GG/GA ²	100,0 (95)	85,3 (81)	– ($>0,05$)	–	–
	AA	–	14,7 (14)		–	–
	GA/AA ³	15,8 (15)	14,7 (14)	0,04 (0,84)	1,09	0,49-2,39
	GG	84,2 (80)	85,3 (81)		0,92	0,42-2,03
	аллель G ⁴	92,1 (175)	85,3 (162)	4,43 (0,036)	2,02	1,04-3,9
аллель A	7,9 (15)	14,7 (28)	0,50		0,26-0,96	
ESR1 rs2234693	TT ¹	41,0 (39)	64,2 (61)	10,03 (0,006)	0,19	0,05-0,70
	TC	45,3 (43)	28,4 (27)		5,21	1,43-19,02
	CC	13,7 (13)	7,4 (7)		0,95	0,02-48,34
	TT/TC ²	86,3 (82)	92,6 (88)	2,01 (0,16)	0,50	0,19-1,32
	CC	13,7 (13)	7,4 (7)		0,95	0,02-48,34
	TC/CC ³	59,0 (56)	35,8 (34)	10,2 (0,002)	2,58	1,43-4,63
	TT	41,0 (39)	64,2 (61)		0,19	0,05-0,70
	аллель T ⁴	63,7 (121)	78,4 (149)	10,2 (0,002)	0,48	0,31-0,76
аллель C	36,3 (69)	21,6 (41)	2,07		1,32-3,27	

Окончание таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7
CCL5 rs2280788	CC ¹	84,2 (80)	95,8 (91)	7,08 (0,008)	0,23	0,08-0,74
	CG	15,8 (15)	4,2 (4)		4,27	1,36-13,38
	GG	–	–		–	–
	CC/CG ²	100,0 (95)	100,0 (95)	–	–	–
	GG	–	–	(>0,05)	–	–
	CG/GG ³	15,8 (15)	4,2 (4)	7,08 (0,008)	4,27	1,36-13,38
	CC	84,2 (80)	95,8 (91)		0,23	0,08-0,74
	аллель C ⁴	92,1 (175)	97,9 (186)	6,70 (0,010)	0,25	0,08-0,77
аллель G	7,9 (15)	2,1 (4)	3,99		1,30-12,24	

Примечание – (здесь и далее) ¹ – аддитивная, ² – рецессивная, ³ – доминантная, ⁴ – мультипликативная модели наследования.

Для ОНП rs1800896 (IL10) генотипом, влияющим на повышение вероятности развития ХОБЛ, является AA – ОШ=2,73. Значение ОШ для генотипа AA полиморфного локуса rs1801275 (IL4R) составило 0,46, что свидетельствует о снижении вероятности развития ХОБЛ у носителей двух аллелей А более чем в 2 раза. Для полиморфизма rs1800795 (IL6) генотипом, ассоциированным с пониженной вероятностью развития ХОБЛ, являлся CC – ОШ=0,42, а для ОНП rs2280788 (ген CCL5) наличие генотипа CG повышает вероятность развития ХОБЛ более чем в 4 раза. Для ОНП rs2234693 (ген ESR1) патологическим оказался генотип TC (ОШ=5,21).

Ассоциация исследуемых полиморфных вариантов с развитием ХОБЛ в зависимости от статуса курения. При сравнении частот генотипов среди курящих и некурящих лиц, страдающих ХОБЛ, а также со здоровыми лицами значимые отличия отмечены для полиморфизмов rs1800896 (IL10), rs1801275 (IL4R), rs1800795 (IL6), rs1800629 (TNF α), rs333 (CCR5), rs2280788 (CCL5), rs4508917 (CXCL10), rs2228014 (CXCR4) и rs2234693 (ESR1). Дальнейший анализ рисковости значимости генотипов и аллелей позволил определить полиморфизмы, ассоциированные с развитием ХОБЛ в зависимости от статуса курения (таблица 2).

Носители мажорного генотипа AA полиморфизма rs1800896 (IL10) у курящих здоровых лиц (18,6%) встречались реже по сравнению с курящими пациентами с ХОБЛ (35,4%). При этом ОШ для AA составило 2,39, что свидетельствует о повышенной вероятности развития ХОБЛ у курящих носителей этого генотипа.

Носители CG/GG полиморфного варианта rs1800795 (ген IL6) преобладают в группе некурящих пациентов (70,0%). Наличие гетерозиготного генотипа повышает вероятность развития ХОБЛ у некурящих людей (ОШ=3,63).

Таблица 2. – Вероятность развития ХОБЛ для анализируемых полиморфных вариантов генов у курящих и некурящих пациентов

Генотип/ Аллель	Курящие, %		Некурящие, %		ОШ* [95% ДИ]	ОШ** [95% ДИ]	ОШ*** [95% ДИ]
	с ХОБЛ, n=65	здоровые, n=59	с ХОБЛ, n=30	здоровые, n=36			
1	2	3	4	5	6	7	8
IL10, rs1800896							
AA ¹	35,4	18,6	40,0	27,8	0,82 [0,34-2,00]	2,39 [1,04-5,48]	$\chi^2=4,48$ (p>0,05)
AG	36,9	30,5	13,3	36,1	4,10 [1,28-13,1]	1,33 [0,63-2,82]	
GG	27,7	50,9	46,7	36,1	0,44 [0,18-1,08]	0,37 [0,17-0,76]	
AA/AG ²	72,3	49,2	53,3	63,9	$\chi^2=3,32$ (p>0,05)	2,70 [1,28-5,69]	$\chi^2=0,75$ (p>0,05)
GG	27,7	50,8	46,7	36,1		0,37 [0,18-0,78]	
AG/GG ³	64,6	81,4	60,0	72,2	$\chi^2=0,19$ (p>0,05)	0,42 [0,18-0,96]	$\chi^2=1,10$ (p>0,05)
AA	35,4	18,6	40,0	28,7		2,39 [1,04-5,48]	
аллель А ⁴	53,8	33,8	46,7	45,8	$\chi^2=0,85$ (p>0,05)	2,28 [1,36-3,80]	$\chi^2=0,01$ (p>0,05)
аллель G	46,2	66,2	53,3	54,2		0,44 [0,26-0,74]	
IL4R, rs1801275							
AA ¹	26,2	16,9	43,3	16,7	$\chi^2=2,96$ (p>0,05)	$\chi^2=1,54$ (p>0,05)	3,82 [1,23-11,9]
AG	67,7	76,3	50,0	83,3			–
GG	6,1	6,8	6,7	0,0			–
AG/GG ³	73,8	83,1	56,7	83,3	$\chi^2=2,80$ (p>0,05)	$\chi^2=1,54$ (p>0,05)	0,26 [0,08-0,81]
AA	26,2	16,9	43,3	16,7			3,82 [1,23-11,9]
IL6, rs1800795							
CC ¹	13,8	20,3	30,0	63,9	$\chi^2=3,55$ (p>0,05)	$\chi^2=1,32$ (p>0,05)	0,24 [0,09-0,68]
CG	60,0	50,8	46,7	19,4			3,63 [1,22-10,8]
GG	26,2	18,9	23,3	16,7			1,52 [0,45-5,15]
CG/GG ³	86,2	79,7	70,0	36,1	$\chi^2=0,09$ (p>0,05)	$\chi^2=0,11$ (p>0,05)	4,13 [1,47-11,6]
CC	13,8	20,3	30,0	63,9			0,24 [0,09-0,68]
аллель C ⁴	43,8	45,8	53,3	73,6	$\chi^2=1,48$ (p>0,05)	$\chi^2=0,09$ (p>0,05)	0,41 [0,20-0,85]
аллель G	56,2	54,2	46,7	23,4			2,44 [1,18-5,06]
TNF α , rs1800629							
GG ¹	58,5	84,7	70,0	58,3	$\chi^2=1,55$ (p>0,05)	0,25 [0,11-0,60]	1,67 [0,60-4,64]
GA	32,3	15,3	20,0	33,3		2,78 [1,15-6,71]	0,50 [0,16-1,55]
AA	9,2	0,0	10,0	8,4		–	1,22 [0,23-6,55]
GA/AA ³	41,5	15,3	30,0	41,7	$\chi^2=0,72$ (p>0,05)	3,95 [1,66-9,37]	$\chi^2=0,52$ (p>0,05)
GG	58,5	84,7	70,0	58,3		0,25 [0,11-0,60]	
аллель G ⁴	74,6	92,4	80,0	75,0	$\chi^2=0,66$ (p>0,05)	0,24 [0,11-0,53]	$\chi^2=0,47$ (p>0,05)
аллель A	25,4	7,6	20,0	25,0		4,12 [1,88-9,04]	
CXCR4, 2228014							
аллель G ⁴	93,8	79,7	88,3	94,4	$\chi^2=1,72$ (p>0,05)	3,89 [1,67-9,06]	$\chi^2=0,23$ (p>0,05)
аллель A	6,2	20,3	11,7	5,6		0,43 [0,11-0,60]	
CCR5, rs333							
NN ¹	84,6	98,3	96,7	86,1	$\chi^2=3,65$ (p>0,05)	0,09 [0,01-0,77]	$\chi^2=0,21$ (p>0,05)
ND	4,6	1,7	3,3	13,9		1,17 [0,28-27,8]	
DD	10,8	0,0	0,0	0,0		–	
ND/DD ³	15,4	1,7	3,3	13,9	$\chi^2=0,16$ (p>0,05)	10,5 [1,30-85,1]	$\chi^2=0,02$ (p>0,05)
NN	84,6	98,3	96,7	86,1		0,09 [0,01-0,77]	

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8
CXCL10, rs45089170							
аллель А ⁴	73,1	66,1	48,3	69,4	1,39 [0,81-2,40]	$\chi^2=1,43$ (p>0,05)	0,41 [0,20-0,84]
аллель G	26,9	33,9	51,7	30,6	0,72 [0,42-1,24]		2,43 [1,19-4,96]
ESR1, rs2234693							
ТТ ¹	40,0	71,2	43,3	52,8	$\chi^2=0,61$ (p>0,05)	0,27 [0,13-0,57]	$\chi^2=0,74$ (p>0,05)
ТС	47,7	23,7	40,0	36,1		2,93 [1,35-6,35]	
СС	12,3	5,1	16,7	11,1		2,62 [0,66-10,4]	
ТС/СС ³	60,0	28,8	56,7	47,2	$\chi^2=0,06$ (p>0,05)	2,13 [1,12-4,06]	$\chi^2=0,58$ (p>0,05)
ТТ	40,0	71,2	43,3	52,8		0,47 [0,25-0,90]	
аллель Т ⁴	63,8	83,1	63,3	70,8	$\chi^2=0,01$ (p>0,05)	0,53 [0,32-0,88]	$\chi^2=0,84$ (p>0,05)
аллель С	36,2	16,9	36,7	29,2		1,90 [1,14-3,16]	

Примечание – Помечены * – при сравнении курящих и некурящих с ХОБЛ, ** – при сравнении курящих с ХОБЛ и курящих здоровых людей, *** – при сравнении некурящих с ХОБЛ и некурящих здоровых людей; жирным выделены результаты, ассоциированные с повышенной или пониженной вероятностью развития ХОБЛ.

У курильщиков – носителей генотипа GG rs1800629 (TNF α) вероятность ХОБЛ снижена в 4 раза, в то время как носительство генотипа GA увеличивает вероятность развития заболевания у курильщиков в 2,78 раза.

Среди некурящих пациентов с ХОБЛ (43,3%) по сравнению со здоровыми некурящими (16,7%) увеличена доля носителей генотипа AA rs1801275 гена IL4R, наличие которого сопряжено с повышенным риском ХОБЛ (ОШ=3,82).

В отношении полиморфизмов rs4508917 (CXCL10) и rs2228014 (CXCR4) значимой ассоциации генотипов с формированием ХОБЛ не выявлено. При этом носительство аллели G rs4508917 (CXCL10) сопряжено с более высокой вероятностью развития заболевания (ОШ=2,43) у некурящих людей. У курильщиков с повышенной вероятностью возникновения ХОБЛ ассоциировано наличие аллели G rs2228014 (CXCR4) (ОШ=3,89).

Для полиморфного локуса rs333 (CCR5) связь с развитием ХОБЛ определена в отношении генотипа NN, наличие которого указывает на низкую предрасположенность к ХОБЛ (ОШ=0,09).

У курящих пациентов с ХОБЛ преобладает носительство аллели С rs2234693 гена ESR1 и генотипов с этой аллелью (60,0%) по сравнению с курящими здоровыми людьми (28,8%) в доминантной модели наследования. Более того, для курильщиков отмечена существенная ассоциация генотипов ТС/СС с ХОБЛ, которая демонстрирует повышение риска развития заболевания при таком носительстве более чем в 2 раза.

Ассоциация исследуемых полиморфных вариантов с развитием ХОБЛ в зависимости от пола. Сравнение частот генотипов среди мужчин и женщин, страдающих ХОБЛ, выявило существенные отличия для полиморфных вариантов генов rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2280788 (CCL5), rs1801275

(IL4R), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs2234693 (ESR1) и rs731236 (VDR). Дальнейший анализ рисковей значимости генотипов и аллелей позволил определить те полиморфизмы, которые ассоциированы с развитием ХОБЛ в зависимости от пола (таблица 3).

Пациенты мужского пола, страдающие ХОБЛ, значительно чаще являются носителями генотипов, содержащих аллель А – АА (37,5%) и АG (33,8%) полиморфного локуса rs1800896 гена IL10 по сравнению с лицами женского пола (33,3% и 6,7% соответственно). В то же время по сравнению со здоровыми женщинами у пациенток с ХОБЛ доля носителей генотипа АА больше (4,8% и 33,3% соответственно). Оценка рисковей значимости ОНП rs1800896 показала, что генотип АА действительно влияет на повышение вероятности развития ХОБЛ у женщин (ОШ=10,0).

Таблица 3. – Вероятность развития ХОБЛ на основании носительства генотипов/аллелей полиморфизмов генов у мужчин и женщин

Генотип/ аллель	Мужчины, %		Женщины, %		ОШ* [95% ДИ]	ОШ** [95% ДИ]	ОШ*** [95% ДИ]
	с ХОБЛ, n=80	здоровые, n=74	с ХОБЛ, n=15	здоровые, n=21			
1	2	3	4	5	6	7	8
IL10, rs1800896							
АА ¹	37,5	27,0	33,3	4,8	1,20 [0,37-3,85]	$\chi^2=2,87$ (p>0,05)	10,0 [1,03-97,5]
АG	33,8	32,4	6,7	33,3	7,13 [0,89-57,1]		0,14 [0,02-1,32]
GG	28,7	40,5	60,0	61,9	0,27 [0,09-0,84]		0,92 [0,24-3,59]
IL4R, rs1801275							
АА ¹	30,0	18,9	40,0	9,5	$\chi^2=0,62$ (p>0,05)	$\chi^2=2,75$ (p>0,05)	6,33 [1,06-37,8]
АG	63,8	75,7	53,3	90,5			0,12 [0,02-0,71]
GG	6,2	5,4	6,7	0,0			–
IL6, rs1800795							
CC ¹	21,3	33,8	6,7	47,6	$\chi^2=1,81$ (>0,05)	$\chi^2=3,06$ (p>0,05)	0,08 [0,01-0,71]
CG	53,8	45,9	66,7	14,3			12,0 [2,36-61,0]
GG	25,0	20,3	26,6	38,1			0,59 [0,14-2,50]
CCR5, rs333							
N ⁴	90,0	96,6	93,3	97,6	$\chi^2<0,001$ (>0,05)	0,32 [0,11-0,88]	$\chi^2=0,57$ (>0,05)
D	10,0	3,4	6,7	2,4			
CCL5, rs2280788							
CC ¹	88,8	100	60,0	81,0	5,26 [1,52-18,3]	–	$\chi^2=0,26$ (p>0,05)
CG	11,2	0,0	40,0	19,0	0,19 [0,06-0,66]		
GG	0,0	0,0	0,0	0,0	–		
CG/GG ³	11,2	0,0	40,0	19,1	0,19 [0,06-0,66]	–	$\chi^2=0,26$ (p>0,05)
CC	88,8	100	60,0	80,9	5,26 [1,52-18,3]		
аллель С ⁴	94,4	100	80,0	90,5	$\chi^2=1,00$ (p>0,05)	$\chi^2=0,30$ (p>0,05)	
аллель G	5,6	0,0	20,0	9,5			

Окончание таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7	8
ESR1, rs2234693							
ТТ ¹	45,0	63,5	20,0	66,7	$\chi^2=3,73$ (p>0,05)	$\chi^2=5,68$ (p>0,05)	0,16 [0,03-0,77]
ТС	41,3	29,7	67,7	23,8			6,40 [1,47-27,8]
СС	13,7	6,8	13,3	9,5			1,46 [0,18-11,7]
ТС/СС ³	55,0	36,5	80,0	33,3	$\chi^2=0,09$ (p>0,05)	2,13 [1,12-4,06]	8,00 [1,69-37,9]
ТТ	45,0	63,5	20,0	66,7			0,47 [0,25-0,90]
аллель Т ⁴	65,6	78,4	53,3	75,6	$\chi^2=1,65$ (p>0,05)	0,53 [0,32-0,88]	0,31 [0,11-0,87]
аллель С	34,4	21,6	46,7	24,4			1,90 [1,14-3,16]
VDR, rs731236							
ТТ ¹	37,5	36,5	73,3	52,4	$\chi^2=0,12$ (p>0,05)	$\chi^2=1,98$ (p>0,05)	0,28 [0,13-0,59]
ТС	47,5	50,0	26,7	42,9			2,93 [1,35-6,35]
СС	15,0	13,5	0,0	4,7			2,62 [0,66-10,4]
ТС/СС ³	62,5	63,5	26,7	47,6	$\chi^2=0,73$ (p>0,05)	$\chi^2=0,30$ (p>0,05)	3,61 [1,70-7,66]
ТТ	37,5	36,5	73,3	52,4			0,28 [0,13-0,59]

Примечание – Помечены * – при сравнении мужчин и женщин с ХОБЛ; ** – при сравнении мужчин с ХОБЛ и здоровых мужчин; *** – при сравнении женщин с ХОБЛ и здоровых женщин; жирным выделены результаты, демонстрирующие статистически значимую связь генотипов и аллелей с вероятностью развития ХОБЛ.

В аддитивной модели наследования среди пациенток, страдающих ХОБЛ, в сравнении с здоровыми женщинами преобладают носители генотипа СG (66,7% и 14,3% соответственно) полиморфного варианта rs1800795 гена IL6. Установлено, что СG связан с повышенной вероятностью развития ХОБЛ у женщин (ОШ=12,0).

Гетерозиготный генотип СG полиморфного локуса rs2280788 гена CCL5 реже встречается у мужчин с ХОБЛ (11,2%), чем у женщин (40,0%). В то же время при носительстве генотипа СС вероятность развития ХОБЛ у мужчин больше в 5,26 раза, чем у женщин.

Доля носителей генотипа АА полиморфизма rs1801275 гена рецептора IL4R у женщин с ХОБЛ преобладала (40,0%) по сравнению со значениями в группе здоровых пациенток (9,5%). Для женщин носительство генотипа АА сопряжено с увеличением вероятности возникновения ХОБЛ (ОШ=6,33).

При оценке полиморфного варианта rs333 гена CCR5 связь с развитием ХОБЛ определена лишь в отношении аллельного варианта. Так, здоровые мужчины заметно чаще (96,6%) являются носителями аллельного варианта N (отсутствие делеции), чем пациенты с ХОБЛ (90,0%). При этом наличие делеции (аллельный вариант D) ассоциирован с повышенной вероятностью развития ХОБЛ (ОШ=3,18).

Значения частот аллелей rs2234693 гена ESR1 в исследуемых группах демонстрируют преобладание носительства аллели С как у женщин с ХОБЛ (46,7%), так и у мужчин, страдающих этим заболеванием (34,4%), по сравнению со здоровыми людьми (24,4% и 21,6% соответственно). Согласно аддитивной

модели наследования доля гомозиготного носительства ТТ значительно преобладает у здоровых женщин (66,7%), в то время как у пациенток с ХОБЛ она составляет 20,0%. Согласно доминантной модели наследования, у мужчин ассоциированными с ХОБЛ оказались генотипы ТС/СС – ОШ=2,13.

Среди пациентов мужского пола – носителей гомозиготного генотипа СС полиморфизма rs731236 гена VDR согласно аддитивной модели наследования преобладают лица, страдающие ХОБЛ (15,0%), тогда как здоровые носители СС наблюдаются в 13,5% случаев ($p < 0,05$). Однако носительство этого генотипа у мужчин не влияет на риск развития заболевания. Вместе с тем, показатели ОШ, рассчитанные для каждого варианта генотипа, указывают на то, что у мужчин – носителей генотипа ТС риск возникновения ХОБЛ более чем в 2 раза выше, чем у женщин с таким же генотипом ($p = 0,027$).

Межгенные взаимодействия для оценки вероятности развития ХОБЛ.

На основании проведенного анализа нами была сформирована стратегия, которая позволяла дифференцировать совокупный вклад полиморфных вариантов, для которых при расчете вероятности развития ХОБЛ было установлено значение ОШ (>1 – неблагоприятный эффект, <1 – протективный эффект) при $p < 0,05$.

У пациентов без учета их статуса курения и пола имеется связь с ХОБЛ в отношении 5 полиморфных локусов – CCL5 (rs2280788), IL10 (rs1800896), IL6 (rs1800795), IL4R (rs1801275) и ESR1 (rs2234693). Модель, обладающая наилучшими прогностическими параметрами, является четырехфакторной. Она включает генотипы полиморфизмов, патогенетическая значимость которых имеет самое выраженное влияние при аддитивном наследовании, при котором носительство любого варианта генотипа имеет разную значимость в предрасположенности к ХОБЛ – СС/СГ/СГ (IL6, rs1800795), генотипы АА/АГ/СГ (IL10, rs1800896), генотипы АА/АГ/СГ (IL4R, rs1801275) и генотипы ТТ/ТС/СС (ESR1, rs2234693). Для данной модели рассчитанное значение ОШ составило 14,4. Суммарный эффект (сбалансированная точность) составляющих ее полиморфизмов свидетельствует о возможности использования результатов их межгенных взаимодействий для прогнозирования риска развития ХОБЛ с вероятностью правильного прогноза 79,0% (таблица 4).

Для моделирования межгенных взаимодействий с учетом статуса курения проведена оценка совместного влияния полиморфизмов на формирование предрасположенности к ХОБЛ отдельно в группе курящих и некурящих людей (таблица 4). В модель межгенных ассоциаций у курильщиков включены полиморфные локусы rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) и rs1800629 (TNF α), а ее сбалансированная точность составляет 73,1%. Модель, построенная для некурящих пациентов, включает полиморфизмы rs1800795 (IL6) и rs1801275 (IL4R). Ее сбалансированная точность составляет 69,8%.

Таблица 4. – Прогностическая ценность мультилокусных моделей для оценки вероятности развития ХОБЛ

Параметры	Модель				
	без учета пола и статуса курения	курящие	некурящие	мужчины	женщины
Сбалансированная точность, %	79,0	73,1	69,8	68,6	82,4
Чувствительность, %	81,8	78,5	80,0	62,5	93,3
Специфичность, %	76,1	67,8	63,3	73,8	71,4
ОШ [95% ДИ]	14,4 [6,9-29,8]	7,67 [3,43-17,15]	6,91 [2,02-23,63]	8,6 [3,1-12,6]	35,0 [0,03-571]
χ^2 (p)	59,3 (p<0,001)	26,9 (p<0,001)	10,4 (p=0,0013)	34,2 (p<0,001)	25,7 (p<0,001)
Воспроизводимость, %	100	100	100	100	100

Анализ межгенных взаимодействий и оценка предрасположенности к ХОБЛ в зависимости от пола проведена отдельно у мужчин и женщин. Наилучшая модель, описывающая межгенные взаимодействия у женщин, включает 3 полиморфных локуса – rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10) и rs2234693 (ESR1). Сбалансированная точность модели составляет 82,4%. Наилучшая модель для оценки ген-генного взаимодействия у мужчин является четырехфакторной – CCL5 (rs2280788), IL10 (rs1800896), ESR1 (rs2234693) и VDR (rs731236) (таблица 4). Сбалансированная точность ее составляет 68,6%.

В результате оценки взаимодействия вышеназванных ОНП удалось также определить неблагоприятные сочетанные носительства генотипов этих полиморфных локусов. Наиболее неблагоприятным при оценке вероятности развития ХОБЛ независимо от статуса курения и пола было сочетание носительства AG (IL4R, rs1801275)/GG (IL6, rs1800795)/CC (ESR1, rs2234693)/AG (IL10, rs1800896). Из величины ОШ для этого сочетания генотипов следует, что их носительство повышает вероятность развития ХОБЛ в 5 раз.

Для курящих лиц неблагоприятным оказалось совместное носительство генотипов TC (ESR1, rs2234693)/AA (IL10, rs1800896)/GG (TNF α , rs1800629), повышающее вероятность развития ХОБЛ в 3 раза. Для некурящих людей таким сочетанием оказалось CG (IL6, rs1800795)/AA (IL4R, rs1801275), носительство которого увеличивает вероятность возникновения заболевания в 8 раз.

Наиболее неблагоприятными сочетаниями генотипов, предрасполагающими к ХОБЛ у женщин, были CG rs1800896 (IL6)/TC rs2234693 (ESR1)/GG rs1800629 (IL10), а также GG rs1800896 (IL6)/TC rs2234693 (ESR1)/GG rs1800629 (IL10) совместное носительство генотипов каждой из комбинаций, если судить по величине ОШ, повышает вероятность развития заболевания в 3 раза. У мужчин наиболее неблагоприятное сочетание генотипов – TC rs731236 (VDR)/CC rs2280788 (CCL5)/AA rs1800896 (IL10)/TT rs2234693 (ESR1) повышает вероятность возникновения ХОБЛ в 2 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. В популяции белорусов пациенты с ХОБЛ значительно чаще, чем здоровые люди, являются носителями генотипов CG полиморфизма rs2280788 (CCL5), AA – rs1800896 (IL10), CG и GG – rs1800795 (IL6), GA – rs2243250 (CXCR4), TC и CC – rs2234693 (ESR1), AG и GG – rs1801275 (IL4R). Носительство генотипов AA (rs1800896 гена IL10), AG/GG (rs1801275 гена IL4R), CG/GG (rs1800795 гена IL6), CG (rs2280788 гена CCL5) и TC/CC (rs2234693 гена ESR1) повышает вероятность развития ХОБЛ (ОШ=2,17-4,27). Наоборот, у носителей генотипов GG (rs1800896 гена IL10), AA (rs1801275 гена IL4R), CC (rs1800795 гена IL6), CC (rs2280788 гена CCL5) и TT (rs2234693 гена ESR1) вероятность ХОБЛ низкая (ОШ=0,19-0,46) [2, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23].

2. У курящих людей носительство генотипов AG и AA (rs1800896 гена IL10), GA/AA (rs1800629 гена TNF α) и TC/CC (rs2234693 гена ESR1) сопряжено с высоким риском ХОБЛ (ОШ=2,13-4,10), в то время как носительство генотипов GG (rs1800896), GG (rs1800629) и TT (rs2234693) – с меньшим риском этого заболевания (ОШ=0,25-0,47). У некурящих носительство генотипов CG (rs1800795 гена IL6) и AA (rs1801275 гена IL4R) увеличивает вероятность развития ХОБЛ (ОШ=1,52-3,82), а носительство генотипов CC (rs1800795) и AG/GG (rs1801275) снижает ее (ОШ=0,24-0,26) [5, 9, 13, 24].

3. У мужчин с генотипами CC (rs2280788 гена CCL5), TC/CC (rs2234693 гена ESR1) и TC (rs731236 гена VDR) риск развития ХОБЛ повышен (ОШ=2,13-5,26), а при наличии генотипов GG (rs1800896 гена IL10), CG/GG (rs2280788 гена CCL5), TT (rs2234693 гена ESR1) и TT (rs731236 гена VDR) он снижен (ОШ=0,19-0,47). У женщин, являющихся носителями генотипов AA (rs1800896 гена IL10), CG (rs1800795 гена IL6), AA (rs1801275 гена IL4R) и TC/CC (rs2234693 гена ESR1), вероятность развития ХОБЛ повышена (ОШ=6,33-12,00), а носительство генотипов CC (rs1800795 гена IL6), AG (rs1801275 гена IL4R) и TT (rs2234693 гена ESR1) сопряжено с меньшей вероятностью возникновения этого заболевания (ОШ=0,08-0,13) [3, 9].

4. Комбинация полиморфизмов rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2234693 (ESR1) и rs1801275 (IL4R) существенно повышает их прогностическую ценность при определении риска развития ХОБЛ. Точность прогноза модели, включающей полиморфные локусы rs1800896 (IL10)/rs1800795 (IL6)/rs2234693 (ESR1)/rs1801275 (IL4R), составляет 79,0%, чувствительность – 81,8%, специфичность – 76,1% [4, 8, 9, 14].

5. У курящих людей сочетанное выявление генотипов полиморфных локусов rs1800896 (IL10)/rs2234693 (ESR1)/rs1800629 (TNF α) позволяет предсказывать риск развития заболевания с точностью 73,1%. Модель,

характеризующая вероятность возникновения заболевания у некурящих, включает полиморфизмы rs1800795 (IL6) и rs1801275 (IL4R) и позволяет прогнозировать развитие ХОБЛ с точностью 69,8% [5, 8, 9, 14].

6. Прогностическая эффективность комплексного анализа полиморфных локусов rs2280788 (CCL5), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) и rs731236 (VDR) для определения риска ХОБЛ у мужчин составляет 68,6%. Сбалансированная точность модели прогноза ХОБЛ у женщин, включающей полиморфизмы rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1), составляет 82,4% [3, 8, 9, 14].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Разработанные с учетом статуса курения и гендерной принадлежности многофакторные модели для пациентов, имеющих снижение параметров легочной функции, являются дополнительным критерием оценки вероятности развития хронической обструктивной болезни легких и рекомендуются к использованию в учреждениях здравоохранения пульмонологического и терапевтического профиля для формирования в дальнейшем стратегии индивидуальной профилактики. По результатам исследования разработаны инструкции по применению [25, 26], которые используются в учреждениях здравоохранения «Минский клинический консультативно-диагностический центр», «Минская областная клиническая больница», государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии».

2. Обнаруженные различия в носительстве генотипов полиморфных локусов в генах цитокинов и их рецепторов, рецепторов кальцитриола и эстрогенов лимфоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких и здоровых людей и их взаимосвязь с вероятностью развития этого заболевания используются в учебном процессе при преподавании патологической физиологии (лекция и практическое занятие «Патологическая физиология внешнего дыхания») и биологической химии (лекция «Основы клинической биохимии» и практическое занятие «Матричные биосинтезы; современные методы молекулярной биологии; анализ продуктов гидролиза нуклеопротеинов») в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет», а также при преподавании клинической лабораторной диагностики и биологической химии (практические занятия «Матричные синтезы», «Регуляция анаболических процессов, связанных с ростом и морфогенезом», «Жирорастворимые витамины» и лекции «Регуляция обмена веществ. Половые гормоны», «Матричные синтезы», «Жирорастворимые витамины») в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». Эти сведения рекомендуются к более широкому использованию в учебном процессе учреждений образования Министерства здравоохранения Республики Беларусь и при проведении научных исследований.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в журналах

1. Хотько, Е. А. Полиморфизм генов рецепторов и их лигандов при хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович // Медицинский журнал. – 2016. – № 3. – С. 36–42.
2. Аллельный полиморфизм генов хемокинов CCL5 и CXCL10 при хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, А. А. Мигас, А. Г. Кадушкин, А. Д. Таганович // Медицинский журнал. – 2019. – № 3. – С. 106–111.
3. Хотько, Е. А. Гендерно-зависимые ассоциации полиморфизмов генов для оценки предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких / А. Д. Таганович, Е. А. Хотько, А. Г. Кадушкин // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2021. – Том 10, № 2. – С. 159–172.
4. Хотько, Е. А. Молекулярно-генетические факторы в прогнозировании риска хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2021. – Том 10, № 2. – С. 173–190.
5. Хотько, Е. А. Связь полиморфных вариантов генов с риском развития хронической обструктивной болезни легких в зависимости от статуса курения / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович, А. Г. Кадушкин // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2021. – Том 10, № 3. – С. 295–308.

Статьи в сборниках научных трудов

6. Полиморфизм гена CCL5 в оценке риска развития хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Беларусь / Е. А. Хотько, А. Г. Кадушкин, С. И. Марчук, А. А. Мигас, А. Д. Таганович // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рецензир. сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. В. Сикорский, В. Я. Хрыщанович. – Минск: ГУ РНМБ; БГМУ, 2018. – Вып. 8. – С. 240–244.
7. Идентификация однонуклеотидных полиморфных маркеров предрасположенности к развитию хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Беларусь / Е. А. Хотько, А. Г. Кадушкин, С. И. Марчук, А. А. Мигас, А. Д. Таганович // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рецензир. сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Республики Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. В. Сикорский, В. Я. Хрыщанович. – Минск: БГМУ, 2019. – Вып. 9. – С. 249–254.
8. Хотько, Е. А. Ассоциация генных полиморфизмов как фактор предрасположенности к развитию хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович // БГМУ в авангарде медицинской науки

и практики: рецензир. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол.: С. П. Рубникович, В. Я. Хрыщанович. – Минск: ИВЦ Минфина, 2020. – Вып. 10. – С. 331–338.

9. Хотько, Е. А. Риск развития ХОБЛ у пациентов с полиморфизмами генов, кодирующих рецепторы лейкоцитов и их лиганды / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович, А. Г. Кадушкин // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рецензир. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол.: С. П. Рубникович, В. А. Филонюк. – Минск: БГМУ, 2021. – Вып. 11. – С. 491–500.

Статьи в сборниках материалов конференций

10. Хотько, Е. А. Полиморфизм генов хемокинов и хемокиновых рецепторов при хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович // Актуальные проблемы биохимии: сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 60-летию создания кафедры биологической химии ГрГМУ, 31 мая 2019 г. [Электронный ресурс] / отв. ред. В. В. Лелевич. – Электрон. текст. дан. (объем 4,2 Мб). – Гродно: ГрГМУ, 2019. – С. 305–308.

11. Хотько, Е. А. Ассоциация полиморфизмов генов IL10, IL4 и IL4R с предрасположенностью к хронической обструктивной болезни легких в белорусской популяции / Е. А. Хотько, А. Ю. Харлап // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: сб. науч. тр. Всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием, 3 декабря 2020 г. / под ред. А. В. Силина, Л. Б. Гайковой. Ч. 2. – СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2020. – С. 218–224.

12. Харлап, А. Ю. Мутации генов CCL5 и CXCR4 при хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Беларусь / А. Ю. Харлап, Е. А. Хотько // Актуальные аспекты медицинской деятельности: сб. статей I Международной науч.-практ. конф., 21 июня 2021 г. / под ред. ректора КировГМУ, проф. Л. М. Железнова и ректора СамГМИ, проф. Ж. А. Ризаева. – Киров–Самарканд, 2021. – С. 190–194.

13. Хотько, Е. А. Сочетание курения и полиморфизма генов CCL5 и ESR1 в оценке риска хронической обструктивной болезни легких [Электронный ресурс] / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович, А. Ю. Харлап // Актуальные проблемы биохимии: сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гродно, 28 мая 2021 г. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Гродненский государственный медицинский университет; редкол.: В. В. Лелевич (отв. ред.), А. Г. Виницкая, И. О. Леднева. – Гродно, 2021. – С. 249–252.

14. Хотько, Е. А. Оценка предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких на основании полиморфизма генов

[Электронный ресурс] / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович // Современные технологии в медицинском образовании: материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию Белорус. гос. мед. ун-та, Республика Беларусь, Минск, 1–5 ноября 2021 г. / под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2021. – С. 548–551.

Тезисы докладов

15. Khotko, E. A. The association CXС chemokine receptor 4 and СС chemokine receptor 5 gene variants with chronic obstructive pulmonary disease / E. A. Khotko // Физико-химическая биология как основа современной медицины: тез. докл. участников Респ. конф. с междунар. участием, посвящ. 110-летию со дня рождения В. А. Бандарина, Минск, 24 мая 2019 г. В 2 ч. / под ред. В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой. – Минск: БГМУ, 2019. – Ч. 2. – С. 18–20.

16. CCL5 rs2280788 polymorphism increased the risk of COPD in the Belarusian population / С. Khotko, А. Kadushkin, А. Tahanovich, А. Migas // European Respiratory Journal. – 2019. – Vol. 54, № 63. – P. 4054.

17. Хотько, Е. А. Аллельный полиморфизм генов IL4 и IL4R у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / Е. А. Хотько, А. Ю. Харлап // Физико-химическая биология как основа современной медицины: тез. докл. участников Респ. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной, Минск, 29 мая 2020 г. / под ред. А. Д. Тагановича, В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой. – Минск: БГМУ, 2020. – С. 212–213.

18. Хотько, Е. А. Анализ роли полиморфизмов генов, кодирующих рецепторы эстрогена и витамина D, в развитии хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько // Физико-химическая биология как основа современной медицины: тез. докл. участников Респ. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной, Минск, 29 мая 2020 г. / под ред. А. Д. Тагановича, В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой. – Минск: БГМУ, 2020. – С. 209–210.

19. Хотько, Е. А. Взаимосвязь полиморфизма гена COL1A1 с риском развития хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович, А. Г. Кадушкин // Физико-химическая биология как основа современной медицины: тез. докл. участников Респ. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной, Минск, 29 мая 2020 г. / под ред. А. Д. Тагановича, В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой. – Минск: БГМУ, 2020. – С. 211–212.

20. Khotko, С. Genetic polymorphisms of IL6, IL10, TNF-a and IL4R and associations with the risk of chronic obstructive pulmonary disease in a sample of

Belarusian population / С. Khotko, А. Kadushkin, А. Tahanovich // European Respiratory Journal. – 2020. – Vol. 56, № 64. – P. 1127.

21. Харлап, А. Ю. Полиморфизм генов IL-4 у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких [Электронный ресурс] / А. Ю. Харлап, Е. А. Хотько // Инновации в медицине и фармации – 2020: материалы дистанцион. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 12 октяб. 2020 г. / под ред. С. П. Рубниковича, В. Я. Хрыщановича. – Минск, 2020. – С. 659–661.

22. Хотько, Е. А. Полиморфизм генов CCL5 и CXCR4 при хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, А. Д. Таганович, А. Ю. Харлап // Физико-химическая биология как основа современной медицины: тез. докл. Междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня рождения проф. Е. В. Барковского, Минск, 21 мая 2021 г. / под ред. В. В. Хрусталёва, А. Д. Тагановича, Т. А. Хрусталёвой. – Минск, 2021. – С. 328–330.

23. Хотько, Е. А. Роль полиморфизма гена IL-10 при хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько, В. В. Макаревич, А. Р. Пикуза // Физико-химическая биология как основа современной медицины: тез. докл. Междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня рождения проф. Е. В. Барковского, Минск, 21 мая 2021 г. / под ред. В. В. Хрусталёва, А. Д. Тагановича, Т. А. Хрусталёвой. – Минск, 2021. – С. 327–328.

24. Хотько, Е. А. Генетические полиморфизмы как возможность прогнозирования хронической обструктивной болезни легких / Е. А. Хотько // Научно-практическая конференция с международным участием (Москва, 15 октября 2021 года): сб. тез.; ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – Москва: Издательство Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, 2021. – 32 с.

Инструкции по применению

25. Метод определения вероятности развития хронической обструктивной болезни легких по полиморфизму гена CCL5 № 090-0619 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 28.06.19 / А. Г. Кадушкин, Е. А. Хотько, А. А. Мигас, А. Д. Таганович, С. И. Марчук ; разработ.: УО «БГМУ», ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии». – Минск, 2019. – 11 с.

26. Метод многофакторной оценки вероятности развития хронической обструктивной болезни легких № 098-0921 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 05.11.21 / А. Д. Таганович, Е. А. Хотько, А. Г. Кадушкин, С. И. Марчук ; разработ.: УО «БГМУ». – Минск, 2021. – 12 с.

РЭЗІЮМЭ

Хацько Кацярына Аляксандраўна

Сувязь паліморфных варыянтаў генаў, якія кадзіруюць рэцэптары і іх ліганды, з верагоднасцю развіцця хранічнай абструктыўнай хваробы лёгкіх

Ключавыя словы: хранічная абструктыўная хвароба лёгкіх, палімарфізм, міжгенныя ўзаемадзеянні, схільнасць.

Мэта даследавання: знайсці генетычныя маркеры схільнасці да хранічнай абструктыўнай хваробы лёгкіх у жыхароў Рэспублікі Беларусь і распрацаваць метадычныя падыходы да ацэнкі верагоднасці развіцця гэтага захворвання.

Метады даследавання: вылучэнне геномнай ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя ў рэжыме рэальнага часу з прымяненнем TaqMan-зондаў, статыстычныя метады аналізу (параўнальны аналіз, аналіз міжгенных узаемадзеянняў).

Атрыманыя вынікі і іх навізна: у пацыентаў з хранічнай абструктыўнай хваробай лёгкіх (ХАХЛ) і ўмоўна здаровых жыхароў з розных рэгіёнаў Беларусі вызначаны частоты алеляў і генатыпаў у паліморфных локусах генаў rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2280964 (CXCR3), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs1801275 (IL4R), rs2243250 (IL4), rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs1800629 (TNF α), rs2234693 (ESR1) і rs731236 (VDR), бялковыя прадукты якіх удзельнічаюць у забеспячэнні імуннага адказу ва ўмовах працяглага запаленчага працэсу ў лёгачнай тканіне. Пэўныя спалучэнні генатыпаў неалельных генаў асацыяваныя з высокай верагоднасцю развіцця ХАХЛ. Камбінацыя палімарфізмаў rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2234693 (ESR1) і rs1801275 (IL4R) істотна павышае іх прагнастычную каштоўнасць пры вызначэнні верагоднасці развіцця ХАХЛ і можа быць выкарыстана ў якасці мадэлі выбару пры ацэнцы верагоднасці ўзнікнення захворвання ў мужчын. Дакладнасць прагнозу мадэлі, у якую ўваходзяць паліморфныя локусы rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2234693 (ESR1), rs1801275 (IL4R), складае 79,0%. Збалансаваная дакладнасць мадэлі прагнозу ХАХЛ у жанчын, у якую ўваходзяць палімарфізмы rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1), складае 82,4%.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя вынікі рэкамендуецца выкарыстоўваць для павышэння дакладнасці прагнозу схільнасці да ХАХЛ.

Галіна прымянення: генетыка, медыцына, навучальны працэс.

РЕЗЮМЕ

Хотько Екатерина Александровна

Связь полиморфных вариантов генов, кодирующих рецепторы и их лиганды, с вероятностью развития хронической обструктивной болезни легких

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, полиморфизм, межгенные взаимодействия, предрасположенность.

Цель работы: найти генетические маркеры предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Беларусь и разработать методические подходы к оценке вероятности развития этого заболевания.

Методы исследования: выделение геномной ДНК, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с применением TaqMan-зондов, статистические методы анализа (сравнительный анализ, анализ межгенных взаимодействий).

Полученные результаты и их новизна: у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и условно здоровых жителей из различных регионов Беларуси определены частоты аллелей и генотипов в полиморфных локусах генов rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2280964 (CXCR3), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs1801275 (IL4R), rs2243250 (IL4), rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs1800629 (TNF α), rs2234693 (ESR1) и rs731236 (VDR), белковые продукты которых участвуют в обеспечении иммунного ответа в условиях длительного воспалительного процесса в легочной ткани. Определенные сочетания генотипов неаллельных генов ассоциированы с высокой вероятностью развития ХОБЛ. Комбинация полиморфизмов rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2234693 (ESR1) и rs1801275 (IL4R) существенно повышает их прогностическую ценность при определении вероятности развития ХОБЛ и может быть использована в качестве модели выбора при оценке вероятности возникновения заболевания у мужчин. Точность прогноза модели, включающей полиморфные локусы rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2234693 (ESR1), rs1801275 (IL4R), составляет 79,0%. Сбалансированная точность модели прогноза ХОБЛ у женщин, включающей полиморфизмы rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1), составляет 82,4%.

Рекомендации по использованию: полученные результаты рекомендуется использовать для повышения точности прогноза предрасположенности к ХОБЛ.

Область применения: генетика, медицина, учебный процесс.

SUMMARY

Khotko Ekaterina A.

Association of polymorphic variants of genes encoding receptors and their ligands with the risk of developing chronic obstructive pulmonary disease

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, polymorphism, gene-gene interactions, predisposition.

Aim of the study: to find genetic markers of predisposition to chronic obstructive pulmonary disease in residents of the Republic of Belarus and to develop methodological approaches to assessing the risk of developing this disease.

Methods of research: DNA isolation, Real-Time polymerase chain reaction using TaqMan probes, statistical methods for data analysis (comparative analysis, analysis of gene-gene interactions).

The results of the study and their novelty: in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and conventionally healthy residents from different regions of Belarus, the frequencies of alleles and genotypes were determined at the polymorphic loci of the rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2280964 (CXCR3), rs2228014 (CXCR3) (CXCR3) (CCR5), rs1801275 (IL4R), rs2243250 (IL4), rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs1800629 (TNF α), rs2234693 (ESR1) and rs731236 (VDR), the protein products of which are involved in the immune response maintenance under conditions of a long-term inflammatory process in the lung tissue. Certain combinations of genotypes of non-allelic genes are associated with a high risk of developing COPD. The combination of the rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2234693 (ESR1), and rs1801275 (IL4R) polymorphisms significantly increases their predictive value in determining the risk of developing COPD and can be used as a model of choice in assessing the risk of developing the disease in men. The prediction accuracy of the model which includes polymorphic loci rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2234693 (ESR1), rs1801275 (IL4R) is 79.0%. The balanced accuracy of the model for the prognosis of COPD in women, including the rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) polymorphisms is 82.4%.

Recommendations for use: the results obtained are recommended to be used to improve the accuracy of predicting the predisposition to chronic obstructive pulmonary disease.

Applications: genetics, medicine, educational process.

Подписано в печать 27.12.21. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Херох office».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,42. Тираж 60 экз. Заказ 580.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.