

УДК 575.174.015.3-06:612.112:616.24-036.12

## Риск развития ХОБЛ у пациентов с полиморфизмами генов, кодирующих рецепторы лейкоцитов и их лиганды

*Хотько Е. А., Таганович А. Д., Кадушкин А. Г.*

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — полигенное заболевание, генетическая предрасположенность которого формируется за счет носительства полиморфных вариантов генов, кодирующих патогенетически значимые белковые молекулы. Целью настоящего исследования явились поиск и оценка прогностической значимости ассоциации межгенных взаимодействий полиморфизмов в структуре генов, кодирующих патогенетически значимые белки, с развитием ХОБЛ у представителей белорусской популяции.

Анализ полиморфных локусов генов проводили методом полимеразной цепной реакции. Статистическую значимость различий в распределении частот генотипов между группами пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц оценивали по тесту  $\chi^2$ . Для определения связи носительства генотипов с риском развития ХОБЛ использовали параметр отношения шансов. Анализ межгенных взаимодействий выполняли в программе MDR.

Полученные данные в ходе настоящего исследования могут помочь в понимании наследственной предрасположенности к ХОБЛ и прогнозировании развития этого заболевания на основе анализа межгенных взаимодействий.

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

**Введение.** Хроническая обструктивная болезнь легких — полигенное заболевание, фенотипическое проявление которого обусловлено комплексом факторов внешней среды и генетической предрасположенностью. Среди причин развития ХОБЛ основной на сегодняшний день признано курение [1]. Помимо курения развитие этой патологии опосредовано гендерной принадлежностью. Ранее считалось, что ХОБЛ страдают преимущественно мужчины старшего возраста, однако рост заболеваемости среди женщин сократил разрыв в распространенности ХОБЛ между полами [2]. Кроме того, ХОБЛ чаще диагностируется среди белых людей [3]. Данные о встречаемости этой патологии в этнических группах ограничены, но имеющиеся сведения указывают на то, что различия в распространенности ХОБЛ существенны [3].

К генетическим причинам ХОБЛ относят, в первую очередь, мутации в генах, белковые продукты которых имеют важное функциональное значение в развитии и течении заболевания. Ими являются гены цитокинов и цитокиновых рецепторов, ответственных за активацию иммунокомпетентных клеток и их направленную миграцию в очаг воспаления при ХОБЛ, а также гены компонентов сигнальных путей, опосредованных рецепторами эстрогенов и кальцитриола.

Реальный вклад определенного генетического полиморфизма в формирование предрасположенности к ХОБЛ может быть оценен только во взаимодействии с иными мутациями или факторами внешней среды.

**Цель работы** — поиск и оценка прогностической значимости ассоциации межгенных взаимодействий полиморфизмов в структуре генов цитокиновых рецепторов и их лигандов, рецепторов кальцитриола и эстрогенов с развитием ХОБЛ у представителей белорусской популяции.

**Материалы и методы.** В исследовании было включено 190 человек европеоидной расы — пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц, постоянно проживающих на территории Республики Беларусь. На базе УЗ «Минский клинический консультативно-диагностический центр» всем участникам проведено исследование функции внешнего дыхания. Группу пациентов с ХОБЛ составили 95 человек (80 мужчин и 15 женщин), среди которых 68,4 % были постоянными курильщиками. Контрольная группа включала 95 здоровых людей (36 мужчин и 59 женщин), правильно выполнивших тестирование при исследовании функции внешнего дыхания. В контрольной группе 62 % обследуемых были по-



стоянными или бывшими курильщиками с индексом курения свыше 10 пачек/лет. Из исследования были исключены пациенты, имеющие симптомы заболеваний бронхолегочной системы или указания на наличие легочной патологии в анамнезе.

В работе изучены межгенные взаимодействия 12 полиморфизмов: rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2280964 (CXCR3), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs1801275 (IL-4R), rs2243250 (IL-4), rs1800795 (IL-6), rs1800896 (IL-10), rs1800629 (TNF- $\alpha$ ), rs2234693 (ESR1) и rs731236 (VDR), частота минорной аллели которых превышала 2 % в европейской популяции (по данным базы HarMap) [4].

Так, ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови всех обследуемых людей с помощью набора реагентов Nucleo Spin Blood (MACHERY-NAGEL, Германия). Детекцию полиморфизмов проводили с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (детектирующий амплификатор BioRad CFX96, Bio-Rad Laboratories, США). Для выявления мутаций использовали конкурирующие TaqMan-зонды, меченные соответствующими флуорофорами. Дискриминацию по генотипу проводили на основании флуоресценции в соответствии с протоколом BioRad CFX96 программного обеспечения CFX Manager.

Статистический анализ данных выполняли в программе SPSS (версия 23.0) Проверку распределения генотипов на соответствие равновесию Харди – Вайнберга и сравнительный анализ частот генотипов в группах пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц проводили с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона. Количественную оценку связи носительства генотипа с риском развития ХОБЛ оценивали на основании показателя отношения шансов (ОШ) и соответствующего 95%-го доверительного интервала (95% ДИ).

Межгенные взаимодействия между исследуемыми полиморфизмами при формировании ХОБЛ анализировали с использованием программного обеспечения MDR (Multifactor Dimensionality Reduction). Данный метод позволяет проводить одновременный анализ множества полиморфизмов генов, выбирая из них такие комбинации, совместная оценка которых даст возможность с высокой точностью спрогнозировать предрасположенность к ХОБЛ. Среди всех мультилокусных моделей выбирали модель с наименьшей ошибкой предсказания, воспроизводимостью не менее 90 % и наилучшей сбалансированной точностью. За критический уровень статистической значимости принимался  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** При оценке распределения частот полиморфных локусов на соответствие равновесию Харди – Вайнберга было выявлено отклонение в контрольной группе для полиморфного локуса rs2228014 (CXCR4) за счет уменьшения гетерозиготности ( $\chi^2 = 100,0$ ;  $p < 0,0001$ ). В отношении других полиморфизмов не было выявлено различий между распределениями генотипов и ожидаемыми, рассчитанными по уравнению Харди – Вайнберга.

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей между пациентами с ХОБЛ и здоровыми лицами не выявил статистически значимой разницы для рассматриваемых полиморфных локусов генов CXCL10, CCR5, IL4, VDR и TNF- $\alpha$ .

При оценке полиморфного локуса rs1800896 гена IL10 оказалось, что вариант GG и аллель G чаще встречаются среди здоровых индивидов, тем самым демонстрируя их сочетание с меньшей вероятностью развития ХОБЛ. В то же время генотипом, статистически значимо влияющим на повышение вероятности развития ХОБЛ, является AA — ОШ = 2,73 (95% ДИ 1,44–5,17,  $p = 0,003$ ).

Относительно полиморфизма rs1801275 гена IL4R показано, что носительство генотипа GG (5,3 %) уступало частоте встречаемости генотипов AA и AG (96,1 % против 94,7 % соответственно) среди здоровых лиц. Значение ОШ для генотипа AA этого однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) составило 0,46 (95% ДИ 0,25–0,84,  $p = 0,015$ ), что свидетельствует о снижении вероятности развития ХОБЛ у носителей этого генотипа более чем в два раза.

Оценка генотипов и аллелей точки rs1800795 гена IL6 показала, что среди пациентов с ХОБЛ преобладают носители гетерозиготного генотипа GC (56,2 %) в сравнении с контрольной группой (40,0 %). При этом генотипом, ассоциированным с пониженной вероятностью развития ХОБЛ, являлся CC — ОШ = 0,42 (95% ДИ 0,22–0,82,  $p = 0,03$ ).

В группе пациентов, страдающих ХОБЛ, преобладали носители аллели G (92,1 %) rs2228014. Однако статистически значимой ассоциации этого ОНП с риском этого заболевания не обнаружено.

Значения частот встречаемости аллелей rs2234693 гена ESR1 в исследуемых группах демонстрируют преобладание носительства аллели С среди лиц, страдающих ХОБЛ (36,3 %), по сравнению со здоровыми людьми (21,6 %). Для этого полиморфизма патологическим оказался генотип TC — ОШ5,21 (95% ДИ 1,43–19,02,  $p = 0,006$ ).



Сравнительный анализ частот генотипов полиморфного локуса rs2280788 гена CCL5 в группах пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц позволяет прийти к заключению о том, что у пациентов с ХОБЛ доля носителей гетерозиготного генотипа CG гена CCL5 выше (15,8 %), чем у здоровых людей (4,2 %). Как показывают результаты нашей работы, наличие генотипа CG повышает вероятность развития ХОБЛ более чем в 4 раза — ОШ4,27 (95% ДИ 1,36–13,38,  $p = 0,0008$ ).

При сравнении частот генотипов среди курящих и некурящих лиц, страдающих ХОБЛ, а также со здоровыми лицами отсутствовала статистически значимая разница для полиморфных локусов rs731236 гена VDR, rs4508917 гена CXCL10, rs2228014 гена CXCR4 и rs2243250 гена IL4 ( $\chi^2 < 5,99, p > 0,05$ ). Внутри подгрупп, сформированных по половому признаку, а также среди мужчин и женщин, страдающих ХОБЛ, сравнение частот генотипов не обнаружило значимых различий для рассматриваемых полиморфных локусов генов CXCL10 ( $\chi^2 < 1,00$ ), IL4 ( $\chi^2 < 2,00$ ) и TNF- $\alpha$  ( $\chi^2 < 5,00$ ).

Для остальных полиморфизмов, которые показали различия в носительстве генотипов у пациентов с ХОБЛ и здоровых людей в зависимости от статуса курения и половой принадлежности, аналогично предыдущему этапу исследования были рассчитаны значения ОШ и 95% ДИ с целью обнаружения риск-ассоциированных генотипов. Для курящих и некурящих людей не было выявлено значимой ассоциации полиморфных локусов генов CCR5 и CCL5 с риском развития ХОБЛ. Для остальных полиморфизмов были определены протективные и рисковые генотипы, носительство которых в аддитивном, доминантном или мультипликативном наследовании вносит существенный вклад в формирование предрасположенности к заболеванию (таблица 1).

Таблица 1 — Результаты оценки риска ХОБЛ на основании носительства генотипов/аллелей полиморфизмов генов у курящих и некурящих

Генотип/ аллель	Частота встречаемости, n (%)				ОШ* (95% ДИ)	ОШ** (95% ДИ)	ОШ*** (95% ДИ)
	Курящие		Некурящие				
	с ХОБЛ	здоровые	с ХОБЛ	здоровые			
<b>IL10, rs1800896</b>							
AA <sup>1</sup>	23 (35,4)	11 (18,6)	12 (40,0)	10 (27,8)	0,82 (0,34–2,00)	<b>2,39</b> <b>(1,04–5,48)</b>	$\chi^2 = 4,48$ ( $p > 0,05$ )
AG	24 (36,9)	18 (30,5)	4 (13,3)	13 (36,1)	<b>4,10</b> <b>(1,28–13,1)</b>	1,33 (0,63–2,82)	
GG	18 (27,7)	30 (50,9)	14 (46,7)	13 (36,1)	0,44 (0,18–1,08)	<b>0,37</b> <b>(0,17–0,76)</b>	
AA/AG <sup>2</sup>	47 (72,3)	29 (49,2)	16 (53,3)	23 (63,9)	$\chi^2 = 3,31$ ( $p > 0,05$ )	<b>2,70</b> <b>(1,28–5,69)</b>	$\chi^2 = 0,75$ ( $p > 0,05$ )
GG	18 (27,7)	30 (50,8)	14 (46,7)	13 (36,1)		<b>0,37</b> <b>(0,18–0,78)</b>	
AG/GG <sup>3</sup>	42 (64,6)	48 (81,4)	18 (60,0)	26 (72,2)	$\chi^2 = 0,19$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,42</b> <b>(0,18–0,96)</b>	$\chi^2 = 1,10$ ( $p > 0,05$ )
AA	23 (35,4)	11 (18,6)	12 (40,0)	10 (28,7)		<b>2,39</b> <b>(1,04–5,48)</b>	
Аллель A <sup>4</sup>	70 (53,8)	40 (33,8)	28 (46,7)	33 (45,8)	$\chi^2 = 0,85$ ( $p > 0,05$ )	<b>2,28</b> <b>(1,36–3,80)</b>	$\chi^2 = 0,01$ ( $p > 0,05$ )
Аллель G	60 (46,2)	78 (66,2)	32 (53,3)	39 (54,2)		<b>0,44</b> <b>(0,26–0,74)</b>	
<b>IL6, rs1800795</b>							
CC <sup>1</sup>	9 (13,8)	12 (20,3)	9 (30,0)	23 (63,9)	$\chi^2 = 3,55$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 1,32$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,24</b> <b>(0,09–0,68)</b>
CG	39 (60,0)	30 (50,8)	14 (46,7)	7 (19,4)			<b>3,63</b> <b>(1,22–10,8)</b>
GG	17 (26,2)	17 (18,9)	7 (23,3)	6 (16,7)			1,52 (0,45–5,15)



Окончание табл. 1

Генотип/ аллель	Частота встречаемости, <i>n</i> (%)				ОШ* (95% ДИ)	ОШ** (95% ДИ)	ОШ*** (95% ДИ)
	Курящие		Некурящие				
	с ХОБЛ	здоровые	с ХОБЛ	здоровые			
GG/CG <sup>3</sup>	56 (86,2)	47 (79,7)	21 (70,0)	13 (36,1)	$\chi^2 = 0,09$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 0,11$ ( $p > 0,05$ )	<b>4,13</b> <b>(1,47–11,6)</b>
CC	9 (13,8)	12 (20,3)	9 (30,0)	23 (63,9)			<b>0,24</b> <b>(0,09–0,68)</b>
Аллель С <sup>4</sup>	57 (43,8)	54 (45,8)	32 (53,3)	53 (73,6)	$\chi^2 = 3,49$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 0,93$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,41</b> <b>(0,20–0,85)</b>
Аллель G	73 (56,2)	64 (54,2)	28 (46,7)	19 (23,4)			<b>2,44</b> <b>(1,18–5,06)</b>
TNF- $\alpha$ , rs1800629							
GG <sup>1</sup>	38 (58,5)	50 (84,7)	21 (70,0)	21 (58,3)	$\chi^2 = 1,55$ ( $p > 0,05$ )		1,67 <b>(0,11–0,60)</b>
GA	21 (32,3)	9 (15,3)	6 (20,0)	12 (33,3)			0,50 <b>(1,15–6,71)</b>
AA	6 (9,2)	0 (0,0)	3 (10,0)	3 (8,4)			– 1,22 <b>(0,23–6,55)</b>
GA/AA <sup>3</sup>	27 (41,5)	9 (15,3)	9 (30,0)	15 (41,7)	1,66 [0,66–4,18]	<b>3,95</b> <b>(1,66–9,37)</b>	0,60 <b>(0,22–1,67)</b>
GG	38 (58,5)	50 (84,7)	21 (70,0)	21 (58,3)	0,60 [0,24–1,52]	<b>0,25</b> <b>(0,11–0,60)</b>	1,67 <b>(0,60–4,64)</b>
Аллель G <sup>4</sup>	97 (74,6)	109 (92,4)	48 (80,0)	54 (75,0)	$\chi^2 = 0,66$ ( $p > 0,05$ )		<b>0,24</b> <b>(0,11–0,53)</b>
Аллель A	33 (25,4)	9 (7,6)	12 (20,0)	18 (25,0)			<b>4,12</b> <b>(1,88–9,04)</b>
IL4R, rs1801275							
AA <sup>1</sup>	17 (26,2)	10 (16,9)	13 (43,3)	6 (16,7)	$\chi^2 = 2,96$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 1,54$ ( $p > 0,05$ )	<b>3,82</b> <b>(1,23–11,9)</b>
AG	44 (67,7)	45 (76,3)	15 (50,0)	30 (83,3)			–
GG	4 (6,1)	4 (6,8)	2 (6,7)	0 (0,0)			–
AG/GG <sup>3</sup>	48 (73,8)	49 (83,1)	17 (56,7)	30 (41,7)	$\chi^2 = 2,96$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 1,54$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,26</b> <b>(0,08–0,81)</b>
AA	17 (26,2)	10 (16,9)	13 (43,3)	6 (58,3)			<b>3,82</b> <b>(1,23–11,9)</b>
ESR1, rs2234693							
TC/CC <sup>3</sup>	39 (60,0)	17 (28,8)	17 (56,7)	17 (47,2)	$\chi^2 = 0,06$ ( $p > 0,05$ )		<b>2,13</b> <b>(1,12–4,06)</b>
TT	26 (40,0)	42 (71,2)	13 (43,3)	19 (52,8)			<b>0,47</b> <b>(0,25–0,90)</b>
Аллель Т <sup>4</sup>	83 (63,8)	98 (83,1)	38 (63,3)	51 (70,8)	$\chi^2 = 0,01$ ( $p > 0,05$ )		<b>0,53</b> <b>(0,32–0,88)</b>
Аллель С	47 (36,2)	20 (16,9)	22 (36,7)	21 (29,2)			1,90 <b>(1,14–3,16)</b>

*Примечание.* Здесь и в таблице 2 верхние индексы 1, 2, 3, 4 — соответственно аддитивная, рецессивная, доминантная и мультипликативная модели наследования.

\* Курящие vs некурящие пациенты с ХОБЛ.

\*\* Курящие пациенты с ХОБЛ vs курящие здоровые лица.

\*\*\* Некурящие пациенты с ХОБЛ vs некурящие здоровые лица.

«—» — отсутствие пациентов-носителей генотипа.



Несмотря на то что имелись различия в носительстве генотипов полиморфного локуса гена CXCR4 между мужчинами и женщинами, этот полиморфизм не был связан с изменением риска развития ХОБЛ. Оставшиеся полиморфные варианты показали значительную ассоциацию со снижением или увеличением вероятности возникновения этого заболевания в зависимости от пола (таблица 2).

Таблица 2 — Результаты оценки риска ХОБЛ на основании носительства генотипов/аллелей полиморфизмов генов у мужчин и женщин

Генотип/ аллель	Частота встречаемости, n (%)				ОШ* (95% ДИ)	ОШ** (95% ДИ)	ОШ*** (95% ДИ)	
	Мужчины		Женщины					
	с ХОБЛ	здоровые	с ХОБЛ	здоровые				
IL10, rs1800896								
AA <sup>1</sup>	30 (37,5)	20 (27,0)	5 (33,3)	1 (4,8)	1,20 (0,37–3,85)	$\chi^2 = 2,87$ ( $p > 0,05$ )	<b>10,0</b> <b>(1,03–97,5)</b>	
AG	27 (33,8)	24 (32,4)	1 (6,7)	7 (33,3)	7,13 (0,89–57,1)		0,14 (0,02–1,32)	
GG	23 (28,7)	30 (40,5)	9 (60,0)	13 (61,9)	<b>0,27</b> <b>(0,09–0,84)</b>		0,92 (0,24–3,59)	
IL6, rs1800795								
CC <sup>1</sup>	17 (21,3)	25 (33,8)	1 (6,7)	10 (47,6)	$\chi^2 = 1,81$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 3,06$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,08</b> <b>(0,01–0,71)</b>	
CG	43 (53,8)	34 (45,9)	10 (66,7)	3 (14,3)			<b>12,0</b> <b>(2,36–61,0)</b>	
GG	20 (25,0)	15 (20,3)	4 (26,6)	8 (38,1)			0,59 (0,14–2,50)	
CCL5, rs2280788								
CC <sup>1</sup>	71 (88,8)	74 (100)	9 (60,0)	17 (81,0)	<b>5,26</b> <b>(1,52–18,3)</b>	–	$\chi^2 = 0,26$ ( $p > 0,05$ )	
CG	9 (11,2)	0 (0,0)	6 (40,0)	4 (19,0)	<b>0,19</b> <b>(0,06–0,66)</b>	–		
GG	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	–	–		
CG/GG <sup>3</sup>	9 (11,2)	0 (0,0)	6 (40,0)	4 (19,1)	<b>0,19</b> <b>(0,06–0,66)</b>	–	$\chi^2 = 0,26$ ( $p > 0,05$ )	
CC	71 (88,8)	74 (100,0)	9 (60,0)	17 (80,9)	<b>5,26</b> <b>(1,52–18,3)</b>	–		
АллельС <sup>4</sup>	151 (94,4)	74 (100,0)	24 (80,0)	38 (90,5)	<b>4,19</b> <b>(1,37–12,8)</b>	$\chi^2 = 1,00$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 0,30$ ( $p > 0,05$ )	
АллельG	9 (5,6)	0 (0,0)	6 (20,0)	4 (9,5)	<b>0,24</b> <b>(0,08–0,73)</b>			
IL4R, rs1801275								
AA <sup>1</sup>	24 (30,0)	14 (18,9)	6 (40,0)	2 (9,5)	$\chi^2 = 0,62$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 2,75$ ( $p > 0,05$ )	<b>6,33</b> <b>(1,06–37,8)</b>	
AG	51 (63,7)	56 (75,7)	8 (53,3)	19 (90,5)			<b>0,12</b> <b>(0,02–0,71)</b>	
GG	5 (6,3)	4 (5,4)	1 (6,7)	0 (0,0)			–	
CCR5, rs333								
NN <sup>1</sup>	71 (88,8)	69 (93,2)	13 (86,7)	20 (95,2)	$\chi^2 = 4,84$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,28</b> <b>(0,13–0,59)</b>	$\chi^2 = 0,56$ ( $p > 0,05$ )	
ND	2 (2,5)	5 (6,8)	2 (13,3)	1 (4,8)				<b>2,93</b> <b>(1,35–6,35)</b>
DD	7 (8,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)				2,62 (0,66–10,4)



Окончание табл. 2

Генотип/ аллель	Частота встречаемости, n (%)				ОШ* (95% ДИ)	ОШ** (95% ДИ)	ОШ*** (95% ДИ)	
	Мужчины		Женщины					
	с ХОБЛ	здоровые	с ХОБЛ	здоровые				
ESR1, rs2234693								
TT <sup>1</sup>	36 (45,0)	47 (63,5)	3 (20,0)	14 (66,7)	$\chi^2 = 3,73$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 5,68$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,16</b> <b>(0,03–0,77)</b>	
TC	33 (41,3)	22 (29,7)	10 (67,7)	5 (23,8)			<b>6,40</b> <b>(1,47–27,8)</b>	
CC	11 (13,7)	5 (6,8)	2 (13,3)	2 (9,5)			1,46 (0,18–11,7)	
TC/CC <sup>3</sup>	44 (55,0)	27 (36,5)	12 (80,0)	7 (33,3)	$\chi^2 = 0,09$ ( $p > 0,05$ )	<b>2,13</b> <b>(1,12–4,06)</b>	<b>8,00</b> <b>(1,69–37,9)</b>	
TT	36 (45,0)	47 (63,5)	3 (20,0)	14 (66,7)			<b>0,47</b> <b>(0,25–0,90)</b>	<b>0,13</b> <b>(0,03–0,59)</b>
Аллель T <sup>4</sup>	105 (65,6)	116 (78,4)	16 (53,3)	33 (75,6)	$\chi^2 = 1,65$ ( $p > 0,05$ )	<b>0,53</b> <b>(0,32–0,88)</b>	<b>0,31</b> <b>(0,11–0,87)</b>	
Аллель C	55 (34,4)	32 (21,6)	14 (46,7)	9 (24,4)			<b>1,90</b> <b>(1,14–3,16)</b>	<b>3,20</b> <b>(1,15–8,97)</b>
VDR, rs731236								
TT <sup>1</sup>	30 (37,5)	27 (36,5)	11 (73,3)	11 (52,4)	<b>0,28</b> <b>(0,13–0,59]</b>	$\chi^2 = 0,12$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 1,98$ ( $p > 0,05$ )	
TC	38 (47,5)	37 (50,0)	4 (26,7)	9 (42,9)				<b>2,93</b> <b>(1,35–6,35]</b>
CC	12 (15,0)	10 (13,5)	0 (0,0)	1 (4,7)				2,62 (0,66–10,4]
TC/CC <sup>3</sup>	50 (62,5)	47 (63,5)	4 (26,7)	10 (47,6)	<b>3,61</b> <b>(1,70–7,66]</b>	$\chi^2 = 0,73$ ( $p > 0,05$ )	$\chi^2 = 0,30$ ( $p > 0,05$ )	
TT	30 (37,5)	27 (36,5)	11 (73,3)	11 (52,4)				<b>0,28</b> <b>(0,13–0,59]</b>

\* Сравнение показателей у мужчин и женщин с ХОБЛ.

\*\* Сравнение показателей у мужчин с ХОБЛ и здоровых лиц мужского пола.

\*\*\* Сравнение показателей у женщин с ХОБЛ и здоровых лиц женского пола.

«—» — нет данных из-за отсутствия пациентов-носителей генотипа.

В дальнейшем, для каждого из ОНП, которые имели наиболее тесную взаимосвязь с ХОБЛ, в том числе с учетом пола и статуса курения, определялись прогностические параметры. Критерием сравнительной оценки служил расчет показателей сбалансированной точности, чувствительности и специфичности (таблица 3).

Таблица 3 — Параметры прогностического потенциала полиморфных локусов генов

Ген, локус	Сбалансированная точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
Общая группа (без стратификации по статусу курения и полу)			
rs1801275	59,2	71,3	47,1
rs1800795	55,6	75,3	35,8
rs2234693	61,4	58,7	64,2
rs2280788	55,9	16,0	95,8
rs1800896	55,9	53,3	58,4
Курящие			
rs2234693	65,6	60,0	71,1
rs1800896	61,6	72,3	50,9
rs220000	63,1	41,5	84,8



Окончание табл. 3

Ген, локус	Сбалансированная точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
Некурящие			
rs1800795	66,9	70,0	63,9
rs1801275	66,7	50,0	83,3
Мужчины			
rs1800795	56,3	78,8	33,8
rs731236	53,0	60,0	43,0
rs2280788	56,4	65,0	47,2
rs333	57,3	66,1	47,2
rs1800896	55,9	71,3	40,5
Женщины			
rs2234693	73,3	80,0	66,7
rs1800896	64,3	33,3	95,2
rs1800795	76,2	66,7	85,7

Определение мутации в точке rs2234693 гена ESR1 позволяет предсказать риск развития ХОБЛ с достаточно высокой вероятностью. При этом оценка данного полиморфного локуса характеризуется наибольшей предсказательной способностью в сравнении с другими генетическими маркерами ХОБЛ. Доля правильно классифицированных пациентов с ХОБЛ, т. е. чувствительность предсказания развития этого заболевания на основе выявления rs2234693 гена ESR1 составляет 58,7 %. Доля же правильно распознанных здоровых людей в анализируемой популяции, т. е. специфичность предсказания на основе данного ОНП составляет 64,2 %. Тем самым предрасположенность к ХОБЛ на основе этого полиморфизма правильно прогнозируется с точностью 61,4 %.

Наибольшая чувствительность при прогнозе ХОБЛ характерна для локуса rs1800795 гена IL6 — 75,3 %. В то же время специфичность определения этого ОНП самая низкая (35,8 %), что указывает на большую вероятность ошибки при прогнозировании предрасположенности к ХОБЛ.

Помимо нестратифицированной группы больных и здоровых людей локус rs2234693 гена ESR1 имеет наибольшую величину сбалансированной точности при оценке вероятности ХОБЛ у курящих (65,6 %). Однако в сравнительном плане эта цифра невысока. Чувствительность и специфичность предсказания на основе этого ОНП находятся на уровне 60,0 % и 71,1 % соответственно.

Полиморфизмы rs1800795 гена IL6 и rs1801275 гена IL4R, получившие ранее аргументацию в качестве риск-модифицирующих для некурящих людей, имеют примерно одинаковую точность прогноза — 66,9 % и 66,7 % соответственно. Однако они значительно отличаются по параметрам специфичности и чувствительности. Так правильность прогноза при использовании локуса rs1801275 гена IL4R (50,0 %) существенно уступает таковой величине при анализе точки гена IL6 — rs1800795 (70,0 %). Специфичность этих ОНП характеризуется противоположным прогностическим потенциалом: 83,3 % для rs1801275 и 63,9 % для rs1800795.

При прогнозировании предрасположенности к ХОБЛ у мужчин определено, что ни один из анализируемых для этой категории обследуемых полиморфных локусов не обладает достаточно высокой прогностической ценностью, поскольку точность предсказания риска развития заболевания для каждого из ОНП не превышает 70 %. Несмотря на то что параметр чувствительности для полиморфного локуса rs1800795 гена IL6 находится на уровне 78,8 % и свидетельствует, казалось бы, о высоком потенциале этого генетического маркера при оценке предрасположенности к заболеванию, параметр специфичности его невелик и составляет лишь 33,8 %.

Этот же генетический маркер показывает наилучшие результаты в определении предрасположенности к ХОБЛ у женщин. В самом деле сбалансированная точность, т. е. вероятность правильного предсказания при анализе rs1800795 гена IL6 составляет 76,2 %. Параметры специфичности и чувствительности также находятся на сравнительно высоком уровне — 85,7 % и 66,7 % соответственно.

Для большинства других ассоциированных с ХОБЛ полиморфизмов прогностическая ценность как в стратифицированных группах, так и в группе, где не проводилось разделение по полу и статусу курения, невысока. Результаты анализа их использования с прогностической целью имеют низкую чувствительность и/или специфичность.

Учитывая полученные результаты и полигенность ХОБЛ, с целью повышения прогностической значимости полиморфных локусов были созданы многофакторные модели, включающие наиболее



перспективные в прогностическом плане ОНП. Наиболее высокой сбалансированной точностью обладала модель, включающая генотипы CC/CG/GG (IL6, rs1800795) генотипы AA/AG/GG (IL10, rs1800896), генотипы AA/AG/GG (IL4R, rs1801275) и генотипы TT/TC/CC (ESR1, rs2234693). Патогенетическая значимость такого сочетания имеет самое выраженное влияние при аддитивном наследовании, при котором носительство любого варианта генотипа имеет разную значимость в предрасположенности к ХОБЛ. Стоит отметить, что в отдельности полиморфизмы генов IL10 и ESR1 продемонстрировали связь с риском развития ХОБЛ как в аддитивном, так и в доминантном наследовании. В свою очередь, полиморфные локусы генов IL4R и IL6 были ассоциированы с повышенной вероятностью заболевания только при доминантном наследовании, когда сам факт носительства аллели в составе генотипа патогенетически значим.

Для данной модели рассчитанное значение ОШ составило 14,4, (95 % ДИ [6,9–29,8],  $p < 0,0001$ ). Доля истинно положительных случаев, которые были правильно идентифицированы моделью (чувствительность), составляет 81,8 %. Доля истинно отрицательных случаев, которые были правильно идентифицированы моделью (специфичность), находится на уровне 76,1 %. 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 %.

Результаты многофакторного анализа позволили отобрать модели межгенного взаимодействия, обладающие наилучшими прогностическими признаками и определяющие неблагоприятные сочетанные носительства их генотипов у курящих и некурящих людей (таблица 4). В модель межгенных ассоциаций у курильщиков были включены полиморфные локусы rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) и rs2228014 (CXCR4), а для анализа межгенных взаимодействий у некурящих лиц были использованы полиморфизмы rs1800795 (IL6) и rs1801275 (IL4R), показавшие статистически значимые ассоциации с риском развития ХОБЛ.

Таблица 4 — Параметры прогностических мультилокусных моделей в зависимости от пола и статуса курения

Параметр	Курящие	Некурящие	Мужчины	Женщины
Сбалансированная точность, %	73,1	69,8	73,1	82,4
Чувствительность, %	78,5	80,0	62,5	93,3
Специфичность, %	67,8	63,3	83,8	71,4
Отношение шансов (95% ДИ)	7,67 (3,43–17,15)	6,91 (2,02–23,63)	8,6 (3,1–12,6)	35,0 (0,03–571,0)
$\chi^2$ (хи-квадрат)	26,9 ( $p < 0,0001$ )	10,4 ( $p = 0,0013$ )	34,2 ( $p < 0,0001$ )	25,7 ( $p < 0,0001$ )
Воспроизводимость, %	100	100	100	100

Результаты исследования позволили создать модели межгенного взаимодействия ОНП, обладающие наилучшими прогностическими признаками с учетом гендерной принадлежности. На этом этапе в анализ межгенных взаимодействий и оценки предрасположенности к ХОБЛ у женщин отобраны полиморфные локусы rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) и rs1801275 (IL4R). В окончательную модель, описывающую риск формирования ХОБЛ у женщин, вошли три из названных выше полиморфизмов — rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1). Она демонстрирует более высокую прогностическую значимость (82,4 %).

Для анализа межгенного взаимодействия у мужчин также отобраны локусы, ранее показавшие связь с риском развития ХОБЛ: CCL5 (rs2280788), IL10 (rs1800896), IL6 (rs1800795), VDR (rs731236) и rs333 (CCR5). Все эти полиморфизмы были включены в модель, прогностическая точность которой составила 73,1 %.

Модель, построенная для прогнозирования ХОБЛ у курящих людей, включала три полиморфизма — rs2228014 (CXCR4), rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1). Чувствительность модели, описывающей совокупное влияние на риск ХОБЛ у курящих людей, составляет 78,5 %, специфичность — 67,8 %. Точность прогноза этой модели — 69,8 %. В то же время для предсказания риска развития ХОБЛ у некурящих людей полученная модель включала два полиморфных локуса — rs1800795 (IL6), rs1801275 (IL4R).

Получив такие данные, необходимо было проанализировать приемлемость созданных моделей для практического здравоохранения, т. е. возникает вопрос, следует ли отдать предпочтение какой-



либо модели. В ходе стратификации пациентов в моделях оказались разные, большей частью полиморфизмы, определение которых позволяет прогнозировать риск развития ХОБЛ. К сожалению, сопоставление полученных результатов с данными литературы не представляется возможным, так как подобного рода исследования ранее не проводились. Отсутствие прецедента затрудняет суждение о том, следует ли рассматривать, к примеру, созданную для некурящих пациентов модель как имеющую недостаточно высокую сбалансированную точность (69,8 %). Она может оцениваться как высокая в отсутствии других прогностических критериев. И тогда стратифицированные модели могли бы дать более объективную информацию о вероятности развития ХОБЛ.

Вместе с тем сбалансированная точность модели, предсказывающей возникновение ХОБЛ без учета статуса курения и пола, уступала только модели, прогнозирующей развитие этого заболевания у женщин. Отсутствие стратификации делает модель универсальной для всех пациентов. Кроме того, она имеет высокую информативность и в этом ее преимущество.

**Заключение.** Таким образом, использование общей модели, без учета статуса курения и гендерной принадлежности, очевидно может рассматриваться в качестве модели выбора, имеющей экономическую основу. Она обусловлена стоимостью анализа. Это следует из сравнительных результатов трудовых и материальных затрат. Стоимость аналогичных трудозатрат на одно генотипирование (по данным республиканских научно-практических центров) составляет 27,42 руб., время подготовки пробы и проведения анализа — около 3 ч, стоимость материалов — 12,44 руб. [5]. Таким образом, стоимость генотипирования четырех полиморфных локусов для оценки предрасположенности к ХОБЛ составит около 159,44 руб.

Руководствуясь подобными рассуждениями, нельзя не учитывать и того обстоятельства, что другие модели прогнозирования риска ХОБЛ также оказались высокоинформативными и могут использоваться в практическом здравоохранении как альтернатива унифицированной модели (без стратификации пациентов по полу и статусу курения).

### Литература

1. Camp, P. G. COPD phenotypes in biomass smoke versus tobacco smoke-exposed Mexican women / P. G. Camp, A. Ramirez-Venegas, R. H. Sansores // *Eur. Respir. J.* — 2014. — Vol. 43, № 3. — P. 725–734.
2. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / G. R. Roth [et al.] // *Lancet.* — 2018. — Vol. 392, № 10159. — P. 1736–1788.
3. Early-onset chronic obstructive pulmonary disease is associated with female sex, maternal factors, and African American race in the COPD Gene Study / M. G. Foreman [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2011. — Vol. 184, № 4. — P. 414–420.
4. International Hap Map Project [Electronic resource] / National Human Genome Research Institute Home. — Mode of access: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/news/NCBI\\_retiring\\_HapMap/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/news/NCBI_retiring_HapMap/). — Date of access: 16.06.2021.
5. Платные услуги. Лабораторная диагностика [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://omr.by/platnye-uslugi/prejskuranty-dlya-grazhdan-rb/laboratornaya-diagnostika/> — Дата доступа: 16.06.2021.

## The risk of developing to copd in patients with polymorphisms of genes encoding leukocyte receptors and their ligands

*Khotko E. A., Tahanovich A. D., Kadushkin A. H.*

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a polygenic disease, the genetic predisposition of which is formed due to the carriage of polymorphic variants of genes encoding pathogenetically significant protein molecules. The aim of this study was to search for and assess the prognostic significance of the association of intergenic interactions of polymorphisms in the structure of genes encoding pathogenetically significant proteins with the development of COPD in representatives of the Belarusian population.

Analysis of polymorphic gene loci was carried out by the method of polymerase chain reaction. The statistical significance of differences in the distribution of genotype frequencies between groups of patients with

COPD and healthy individuals was assessed using the  $\chi^2$  test. The odds ratio parameter was used to determine the association between carriage of genotypes and the risk of COPD development. The analysis of gene-gene interactions was performed using the MDR program.

The data obtained in this study may help in understanding the hereditary predisposition to COPD and predicting the development of this disease based on the analysis of intergenic interactions.

**Keywords:** chronic obstructive pulmonary disease, polymorphism, gene-gene interactions.

*Поступила 22.07.2021*