

Г.В. Шабает, Е.А. Хотько

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ IL6 И ESR1 ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. А.Д. Таганович

Кафедра биологической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

G.V. Shabaev, E.A. Khotko

IL6 AND ESR1 GENE POLYMORPHISMS FOR EVALUATION OF PROBABILITY OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE DEVELOPMENT

Tutor: MD, professor A.D. Tahanovich

Department of Biological chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – заболевание, которое в значительной степени детерминировано наследственными факторами. Мутации в генах, кодирующих наработку участников патологического процесса, могут изменять количество синтезируемых белков-цитокинов. В работе отражены результаты поиска ассоциации между однонуклеотидной заменой в структуре гена интерлейкина-6 и вероятностью развития ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, полиморфизм.

Resume. Chronic obstructive pulmonary disease is largely determined by hereditary factors. Mutations in the genes encoding the production of participants in the pathological process can change the amount of synthesized cytokine proteins. This study reflects the results of the search for an association between a single nucleotide polymorphism in the interleukin-6 gene and the likelihood of COPD development.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, polymorphism.

Актуальность. Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) – это патология, которая обусловлена не только воздействием на легкие вредоносных газов и частиц у людей, но и генетической предрасположенностью [1]. Более 3 миллионов человек в год умирают вследствие данной патологии, что составляет примерно около 6% случаев мировой смертности. В Республике Беларусь заболеваемость находится на уровне 574,1 случая на 100 000 взрослого населения [2].

ХОБЛ, как и многие другие воспалительные процессы, характеризуется выраженным воспалительным ответом. Однако воспалительная реакция в легких быстро прогрессирует, что приводит к разрушению легочной паренхимы. Установлено, что усиленный хемотаксис лейкоцитов в легкие обусловлен избыточным синтезом интерлейкинов – белковых молекул, отвечающих за миграцию иммунокомпетентных клеток. Одной из причин избыточного синтеза являются однонуклеотидные замены, в генах, кодирующих провоспалительные интерлейкины и противовоспалительные медиаторы. Среди медиаторов, принимающих участие в развитии воспалительных процессов при ХОБЛ, выделяют интерлейкин-6 (IL6). Этот белок синтезируется активированными макрофагами, Т-клетками, фибробластами, клетками сосудистого эндотелия, глиоцитами [3]. Он является одним из важнейших

медиаторов острой фазы воспаления, стимулирует лейкоцитопоз, пролиферацию и дифференцировку В- и Т-клеток [3]. На поверхности клеток интерлейкин-6 связывается с гетеродимерным рецепторным комплексом, называемым рецептор цитокинов I типа, состоящим из двух трансмембранных белков – рецептора IL-6 и gp130 (или CD130) [3].

Цитогенетическое расположение гена IL-6 – 7p15.3. В промоторе гена располагается значительное число регуляторных сайтов, посредством которых происходит контроль экспрессии гена. Особенно важным является регуляторный сайт связывания универсального ядерного фактора транскрипции «каппа-би» (NF-κB), через который запускается синтез иРНК интерлейкина 1 и фактора некроза опухоли-α [4].

В промоторе гена IL-6 обнаруживаются различные однонуклеотидные полиморфизмы. Один из них – rs1800795 (-174G>C), характеризуется появлением цитозина (C) в 174 положении вместо гуанина (G). Подобные полиморфизмы могут изменять эффективность транскрипции гена и, соответственно, количество вырабатываемого интерлейкина-6.

Ген ESR1 располагается на хромосоме 6q25.1 и кодирует рецептор эстрогена 1. Рецептор содержит N-концевой лиганд-независимый домен трансактивации, центральный ДНК-связывающий домен, шарнирный домен и C-концевой лиганд-зависимый домен трансактивации. В ядре эстрогеновый рецептор 1 типа может образовывать гомодимер или гетеродимер с рецептором эстрогена 2. Белок, кодируемый этим геном, регулирует транскрипцию многих генов, в том числе генов, кодирующих цитокины, участвующие в воспалении при ХОБЛ [5, 6].

Полиморфизм rs2234693 ESR1 расположен в первом интроне, характеризуется заменой тимина (Т) на цитозин (С). Такая однонуклеотидная замена изменяет экспрессию гена ESR1 за счет изменения связывания с фактором транскрипции, а также путем усиления альтернативного сплайсинга иРНК ESR1 [5, 6].

Цель: установить наличие связи полиморфизмов rs2234693 (-397T>C) гена эстрогенового рецептора 1-го типа (ESR1) и rs1800795 (-174G>C) гена интерлейкина-6 (IL6) с вероятностью развития хронической обструктивной болезни лёгких.

Задачи:

1. Определить распределение частот генотипов полиморфных локусов rs2234693 и rs1800795 в группе пациентов с ХОБЛ и группе здоровых лиц.
2. Проанализировать результаты исследования на предмет статистически значимых отличий в распределении частот генотипов между группами пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц.
3. Рассчитать показатель отношения шансов при носительстве генотипов, содержащих минорные аллели, полиморфных локусов rs2234693 ESR1 и rs1800795 IL6.

Материалы и методы. Клиническое обследование и диагностика проводились на базе учреждения здравоохранения «Минский клинический консультативно-диагностический центр». В исследовании приняли участие 190 человек. 95 пациентов имели диагноз ХОБЛ и 95 человек без патологий дыхательной системы составили контрольную группу. До проведения исследования у всех участников было получено

письменное информированное согласие.

Лабораторные и инструментальные методы исследования включали: забор венозной крови, выделение ДНК из лимфоцитов (набор NucleoSpin Blood), хранение ДНК при температуре -20°C , идентификацию мутаций с использованием TaqMan-зондов методом ПЦР real-time (амплификатор ДТ-322, «ДНК-Технология», РФ). Регистрация мажорной или минорной аллели проводилась в программе q-PCR на основании флюоресценции не позже 32 цикла амплификации.

Статистические методы исследования включали: вычисление критерия χ^2 для сравнительной оценки носительства генотипов и аллелей у пациентов с ХОБЛ и здоровых людей; расчет параметров отношения шансов (ОШ) и 95%-ного доверительного интервала (ДИ) для оценки связи того или иного генотипа и аллели с вероятностью развития ХОБЛ. Обработка данных проводилась с использованием пакетов статистических программ «IBM SPSS Statistics 23» и «Microsoft Excel». Статистически значимыми принимали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При анализе распределения частот генотипов полиморфизма rs2234693 ESR1 не обнаружено отклонений от равновесия Харди-Вайнберга как в группе пациентов с ХОБЛ ($\chi^2=2,44$, $p=0,118$), так и в группе здоровых лиц ($\chi^2=0,04$, $p=0,834$), что свидетельствует о репрезентативности исследуемых выборок. Соответствие частот встречаемости генотипов полиморфного локуса rs1800795 IL-6 ожидаемому распределению также свидетельствует о репрезентативности выборок ($\chi^2=1,37$, $p=0,241$ для пациентов с ХОБЛ; $\chi^2=3,4$, $p=0,065$ для клинически здоровых лиц).

Проведенное сравнение частот распределения генотипов rs2234693 между изучаемыми группами показало, что среди лиц, страдающих ХОБЛ, 59,0% являются носителями генотипов с аллелью С, в то время как среди здоровых лиц такое носительство встречается лишь в 35,8% случаев ($\chi^2=10,20$, $p=0,002$). Рассчитанный показатель отношения шансов свидетельствует о повышении вероятности развития ХОБЛ у носителей генотипов с аллелью С в 2,6 раза (95%ДИ=1,4–4,6) (табл. 1).

Табл. 1. Параметры оценки носительства генотипов локуса rs2234693 и их связи с развитием ХОБЛ

Генотип	Пациенты, % (n)	Здоровые лица, % (n)	χ^2	p	ОШ	95%ДИ
С/С, С/Т	59,0 (56)	35,8 (34)	10,2	0,002	2,6	1,4-4,6
Т/Т	41,0 (39)	64,2 (61)			0,2	0,1-0,7

Также выявлены значимые различия в частоте встречаемости генотипов rs1800795 у пациентов с ХОБЛ и здоровых людей ($\chi^2=6,78$, $p=0,010$). Для этого полиморфного локуса характерна ассоциация генотипа СС с пониженной в 2,5 раза вероятностью развития заболевания (ОШ= 0,4; 95%ДИ=0,2-0,8) (табл. 2).

Табл. 2. Параметры оценки носительства генотипов локуса rs1800795 и их связи с развитием ХОБЛ

Генотип	Пациенты, % (n)	Здоровые лица, % (n)	χ^2	p	ОШ	95%ДИ
С/С, С/С	18,9 (18)	35,8 (34)	6,78	0,01	0,4	0,2-0,8
С/С, С/С	81,1 (77)	64,2 (61)			2,4	1,2-4,6

Выводы:

1. Носительство генотипов с аллелью С полиморфного варианта rs2234693 гена эстрогенового рецептора 1-го типа ассоциировано с повышением вероятности развития ХОБЛ в 2,6 раза у жителей Республики Беларусь.

2. Носительство генотипа СС полиморфного варианта rs1800795 гена интерлейкина 6 ассоциировано со снижением вероятности развития ХОБЛ в 2,5 раза у жителей Республики Беларусь.

Литература

1. Genetic polymorphism and chronic obstructive pulmonary disease / С. Yuan [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017. – Vol. 12. – P. 1385–1393.

2. В группе риска – пациенты с астмой и ХОБЛ [Электронный ресурс] / Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии» – Режим доступа: <http://www.rnrcpf.by/ru/belorusskoe-respiratornoe-obschestvo-/2020-05-06-09-04-25.html>. – Дата доступа: 15.03.2022.

3. Tanaka, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease / Т. Tanaka, М. Narazaki, Т. Kishimoto // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2014. – Vol. 6, №10. – P. 1–16.

4. Tumor necrosis factor- α induced the release of interleukin-6 from endometriotic stromal cells by the nuclear factor- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways / N. Yamauchi [et al.] // *Fertility and Sterility Home.* – 2004. – Vol. 82. – P. 1023–1028.

5. GeneCards: The Human Gene Database [Electronic resource] – Mode of access: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ESR1>. – Date of access: 15.03.2022.

6. Estrogen receptor 1 gene (ESR1) rs2234693 polymorphism and breast cancer risk in Saudi women / R. J. Al-Amri [et al.] // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2020. – Vol. 21, №11. – P. 3235–3240.