

**О. Н. Пальчук**

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ РЕЦЕПТОРЫ ЭСТРОГЕНА И ВИТАМИН D, У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ**

*Научный руководитель: ассист. Е. А. Хотько*

*Кафедра биологической химии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

**Резюме.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) зависит как от влияния факторов окружающей среды, так и от генетических факторов. В работе приведены результаты исследования связи генов-кандидатов с восприимчивостью к ХОБЛ в популяции белорусов. Для генотипирования были выбраны одиночные нуклеотидные полиморфизмы (SNP) рецептора витамина D (VDR) rs201956850 и эстрогенового рецептора (ERS1) rs2234693.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких, полиморфизм генов, гены-кандидаты, эстрогеновый рецептор, рецептор витамина D.

**Resume.** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is influenced by both environmental and genetic factors. In this study we investigated candidate genes associated with susceptibility to COPD in the Belorussian population. The single nucleotide polymorphisms (SNPs) of vitamin D receptor (VDR) rs201956850 and estrogen receptor (ERS1) rs2234693 were selected for genotyping.

**Keywords:** chronic obstructive pulmonary disease, single nucleotide polymorphisms, candidate gen, estrogen receptor, vitamin D receptor.

**Актуальность.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – это прогрессирующее заболевание, которое характеризуется ограничением скорости воздушного потока и аномальной воспалительной реакцией дыхательных путей на вдыхаемые частицы или пары. Это заболевание является одной из важнейших проблем здравоохранения всех стран [4].

В основе механизмов развития ХОБЛ лежит направленная миграция лимфоцитов в очаг воспаления, которая обусловлена взаимодействием цитокинов с рецепторами, расположенными на поверхности макрофагов и эпителиальных клеток. Эти клетки участвуют в регуляции воспаления путем секреции медиаторов белковой природы – цитокинов и хемокинов. Высвободившиеся медиаторы активируют и привлекают в очаг воспаления нейтрофилы, моноциты, дендритные клетки и лимфоциты. Известно, что для ХОБЛ характерны количественные изменения хемокиновых и цитокиновых молекул, а также их рецепторов, расположенных на поверхности клеток [1].

В литературе имеются данные о влиянии эстрогена и витамина D на уровень цитокинов и хемокинов в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ [6]. Функциональная активность эстрогена и витамина D реализуется за счет их связывания с соответствующими рецепторами. Наличие мутаций в генах этих рецепторов может изменять взаимодействие молекул [7]. Установлено, что различные варианты эстрогенового рецептора (ESR1) влияют на бронхиальную гиперактивность, а также приводят к снижению функциональной способности легких у пациентов с астмой. Как следствие, процесс ремоделирования дыхательных путей изменяется [2,3]. Витамин D<sub>3</sub>, в свою очередь, взаимодействуя со своим рецептором (VDR), изменяет активность Т-лимфоцитов, а также профили секретируемых цитокинов. Кроме того, имеются

данные об ассоциации различных вариантов рецептора и хронических заболеваний легких. [5]

Анализ генетических факторов может быть использован для прогноза развития и течения заболевания. Это даст возможность клиническим врачам проводить необходимые профилактические мероприятия и максимально отдалить развитие тяжелых осложнений у больных ХОБЛ.

**Цель:** изучить ассоциацию полиморфных локусов генов, кодирующих эстрогеновый рецептор и рецептор витамина D, с развитием хронической обструктивной болезни легких в популяции белорусов.

**Задачи:**

1. Изучить распределение частот аллелей и генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs2234693 гена эстрогенового рецептора у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких и здоровых лиц.

2. Изучить распределение частот аллелей и генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs201956850 гена рецептора витамина D у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких и здоровых лиц.

3. Исследовать ассоциацию полиморфных вариантов генов-кандидатов с развитием хронической обструктивной болезни легких в популяции белорусов.

**Материал и методы.** Клиническое обследование пациентов проводилось на базе учреждения здравоохранения «Минский консультационно-диагностический центр». Материалом для исследования служила сыворотка крови 59 человек с ХОБЛ и 19 клинически здоровых человек (контрольная группа). ДНК из лимфоцитов выделяли с помощью набора для очистки ДНК из образцов крови NucleoSpin Blood (MACHERY-NAGEL, Германия). Полученные пробы хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Наличие мутации определяли методом полимеразной цепной реакции «в реальном времени» с использованием детектирующего амплификатора ДТ-322 («Технология», РФ). Регистрацию «дикой» или «мутантной» аллели проводили с помощью программы q-PCR.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием онлайн-программы «Ген-эксперт». Насколько распределение частот генотипов и аллелей в выборках соответствовало распределению в реальной популяции оценивали с использованием критерия  $\chi^2$  по уравнению Харди-Вайнберга. При попарном сравнении частот генотипов и аллелей использовали точный критерий Фишера. Об ассоциации аллелей и генотипов с патологическим фенотипом судили по величине относительного риска (ОР).

**Результаты и их обсуждение.** Анализ полиморфизма rs2234693 гена ESR1 не выявил отклонений в распределении частот генотипов от ожидаемых при равновесии Харди-Вайнберга среди пациентов с ХОБЛ и в контрольной группе ( $\chi^2 = 1,38$ ,  $p = 0,24$  и  $\chi^2 = 0,45$ ,  $p = 0,5$  соответственно).

При оценке распределения частот аллелей среди пациентов, страдающих ХОБЛ, и в группе здоровых лиц статистически значимых различий выявлено не было (таблица 1).

**Таблица 1.** Мультипликативная модель наследования аллелей ESR1 (тест хи-квадрат, df = 1)

Аллели	Пациенты с ХОБЛ	Здоровые лица	$\chi^2$	<i>p</i>	OR	
	n = 59	n = 19			знач.	95% CI
Аллель W	0,525	0,684	2,95	0,09	0,51	0,24 – 1,11
Аллель M	0,475	0,316			1,96	0,90 – 4,24

Результаты оценки частот распределения генотипов полиморфизма rs2234693 гена ESR1 выявил статистически значимое ( $p=0,03$ ) уменьшение доли "нормального" генотипа W/W у заболевших (25,4%) по сравнению с аналогичным показателем у здоровых лиц (52,6%) (таблица 2).

**Таблица 2.** Доминантная модель наследования генотипов ESR1 (тест хи-квадрат, df = 1)

Генотипы	Пациенты с ХОБЛ	Здоровые лица	$\chi^2$	<i>p</i>	OR	
	n = 59	n = 19			знач.	95% CI
Генотип W/W	0,254	0,526	4,89	0,03	0,31	0,10 – 0,90
Генотип W/M+M/M	0,746	0,474			3,26	1,11 – 9,54

При оценке ассоциации полиморфного варианта с развитием заболевания установлено, что носительство генотипа с аллелью M в 3,26 раза увеличивает риск развития ХОБЛ по сравнению с носителями гомозиготного «дикого» генотипа (OR = 3,26, 95% CI = 1,11 – 9,54) (таблица 2).

В популяции белорусов также не было выявлено отклонений в распределении генотипов VDR от ожидаемых при равновесии Харди-Вайнберга среди пациентов с ХОБЛ и в группе контроля ( $\chi^2 = 0,12$ ,  $p = 0,73$  и  $\chi^2 = 0,05$ ,  $p = 0,82$  соответственно). При оценке распределения частот аллелей и генотипов среди лиц, страдающих ХОБЛ, и в группе контроля статистически значимых различий показано не было ( $p > 0,5$ ) (таблица 3, 4).

**Таблица 3.** Мультипликативная модель наследования аллелей VDR (тест хи-квадрат, df = 1)

Аллели	Пациенты с ХОБЛ	Здоровые лица	$\chi^2$	<i>p</i>	OR	
	n = 59	n = 19			знач.	95% CI
Аллель W	0,619	0,579	0,19	0,66	1,18	0,56 – 2,48
Аллель M	0,381	0,421			0,85	0,40 – 1,78

**Таблица 4.** Доминантная модель наследования генотипов VDR (тест хи-квадрат, df = 1)

Генотипы	Пациенты с ХОБЛ	Здоровые лица	$\chi^2$	<i>p</i>	OR	
	n = 59	n = 19			знач.	95% CI
Генотип W/W	0,847	0,842	0,00	0,96	1,04	0,25 – 4,32
Генотип W/M+M/M	0,153	0,158			0,96	0,23 – 3,98

## **Выводы:**

1 Установлены различия в распределении генотипов полиморфного варианта rs2234693 гена ERS1 между пациентами с ХОБЛ и группой здоровых лиц.

2 У носителей генотипа, содержащего «мутантную» аллель, хроническая обструктивная болезнь легких встречается в 3,26 раза чаще, чем среди носителей «дикого» гомозиготного генотипа.

3 Отсутствует статистически значимая ассоциация полиморфного варианта rs201956850 гена VDR с развитием ХОБЛ в популяции белорусов.

*V. N. Palchuk*

## **POLYMORPHISMS OF ESTROGEN RECEPTOR GENE AND VITAMIN D RECEPTOR GENE IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**

*Tutor: assistant E. A. Khotko*

*Department of Biological Chemistry,  
Belarusian State Medical University, Minsk*

## **Литература**

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 (57). – С. 36–42.
2. Adlanmerinia, M. Mutation of the palmitoylation site of estrogen receptor  $\alpha$  in vivo reveals tissue-specific roles for membrane versus nuclear actions/ M. Adlanmerinia [et al.]// PNAS. – 2013. – Vol. 111, №2. – P. E283–290.
3. Clerch, L. B., Massaro, D., Massaro G.D. Estrogen receptor- regulates pulmonary alveolar loss and regeneration in female mice: morphometric and gene expression studies/ L. B. Clerch, D. Massaro, G. D. Massaro // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2007. – Vol. 293, №1. – P. L222–L228.
4. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://www.goldcopd.org/>. – Дата доступа: 03.05.2018.
5. Ismail, M. F., Elnady, H. G., Fouda, E. M. Genetic variants in vitamin D pathway in Egyptian asthmatic children: A pilot study/ M. F. Ismail, H. G. Elnady, E. M. Fouda// Human Immunology. – 2013. – Vol. 74, №12. – P. 1659–1664.
6. Herr, C. The role of vitamin D in pulmonary disease: COPD, asthma, infection, and cancer [Электронный ресурс] / C. Herr C [et al.] // Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21418564/>. – Дата доступа: 03.05.2018.
7. Papadopoulou, A. Association of vitamin D receptor genetic variants with susceptibility to asthma and atopy. [Электронный ресурс] / A. Papadopoulou [et al.] // Режим доступа: <https://www.pubfacts.com/detail/15282199/Association-of-vitamin-D-receptor-genetic-variants-with-susceptibility-to-asthma-and-atopy/>. – Дата доступа: 03.05.2018.