

**МЕЖГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ
ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ
РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАТУСА КУРЕНИЯ**

Хотько Е. А.

*к. м. н., Белорусский государственный медицинский университет, г.
Минск, Беларусь
qwert.poilk@mail.ru*

Таганович А. Д.

*д. м. н., Белорусский государственный медицинский университет, г.
Минск, Беларусь
ataganovich@gmail.com*

Шабает Г. В.

*студент, Белорусский государственный медицинский университет, г.
Минск, Беларусь
glebshab@mail.ru*

Аннотация. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является мультифакторным заболеванием, в развитии которого определенная роль отводится однонуклеотидным заменам в структуре генов, кодирующих цитокины и цитокиновые рецепторы. Целью настоящего исследования явился поиск наиболее высокочувствительной и специфичной комбинации маркеров полиморфных локусов генов IL4R, IL4, IL6, IL10 и TNF α для оценки предрасположенности к ХОБЛ у курящих и некурящих людей. Анализ межгенного взаимодействия полиморфных локусов был выполнен с использованием программы GMDR 0.9. В результате исследования определены протективные и рискованные сочетания генотипов исследуемых генов в развитии ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких; полиморфизм; цитокины

**GENE INTERACTIONS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF
CYTOKINE GENES AND THEIR RECEPTORS IN PREDICTING THE
DEVELOPMENT OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY
DISEASE DEPENDING ON SMOKING STATUS**

Khotko E. A.,

*Candidate of Medical Sciences, Belarusian State Medical University, Minsk
qwert.poilk@mail.ru*

Tahanovich A. D.

*Doctor of Medical Sciences, Belarusian State Medical University, Minsk
ataganovich@gmail.com*

Shabaev G. V.

student, Belarusian State Medical University, Minsk

Annotation. *Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a multifactorial disease, in the development of which single nucleotide mutations in the structure of genes encoding cytokines and cytokine receptors play a certain role. The purpose of this study was to search for the most highly sensitive and specific combination of markers of the polymorphic loci of the IL4R, IL4, IL6, IL10 and TNF α genes to assess susceptibility to COPD in smokers and non-smokers. Analysis of intergenic interaction of polymorphic loci was performed using the GMDR 0.9 program. As a result of the study, protective and risk combinations of genotypes of the studied genes in the development of COPD were determined.*

Keywords: *chronic obstructive pulmonary disease; polymorphism; cytokines*

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одним из наиболее распространенных мультифакторных заболеваний легких, связанных с воздействием факторов окружающей среды, особенно табачного дыма, и внутренних факторов, таких как однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) генов [1]. SNP представляют собой мутации, способные приводить к качественным или количественным изменениям при синтезе белка [2].

Материалы и методы. Для оценки частот полиморфных вариантов генов медиаторов воспаления из жителей Республики Беларусь была сформирована выборка, включавшая 190 человек. Для проведения анализа полиморфизмов по типу «случай-контроль» были сформированы группы курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ (n=65 и n=30, соответственно) и здоровых лиц (n=59 и n=36, соответственно), подобранных с учетом возраста, пола, этнической принадлежности и параметров внешнего дыхания. Все исследования проводили с добровольного информированного согласия пациентов.

Отбор генов для изучения аллельного полиморфизма основывался на использовании подхода «гены-кандидаты», в результате которого были отобраны гены, белковые продукты которых принимают участие в патогенезе ХОБЛ [3]. Сюда вошли гены IL4R, IL4, IL6, IL10 и TNF- α . Поиск и выбор SNP вышеназванных генов проводился в базе Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>) на основании частоты встречаемости минорной аллели в европейской популяции (согласно данным проекта «1000Genomes»), связи полиморфизма с развитием ХОБЛ в других этнических группах, кроме белорусов, и при условии расположения SNP в кодирующей или регуляторной области гена (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика генетических полиморфизмов, включенных в анализ

Ген	SNP	Локализация в гене	Позиция аллели в гене	Изменение аллели	Минорная аллель	MAF*
IL10	rs1800896	промотор	-1082	A>G	G	0,453
IL4	rs2243250	промотор	-590	C>T	T	0,168
IL4R	rs1801275	экзон (миссенс)	-1902	A>G	G	0,208
TNF α	rs1800629	промотор	-308	G>A	A	0,134
IL6	rs1800795	промотор	-174	C>G	C	0,416

Примечание: MAF – частота минорной аллели в европейской популяции согласно проекту 1000Genomes

Материалом для исследования служила ДНК, выделенная из лимфоцитов периферической крови с помощью набора NucleoSpin Blood (MACHERY-NAGEL, Германия) согласно методике производителя. Определение однонуклеотидных замен проводили при помощи ПЦР в реальном времени с использованием аллель-специфичных TaqMan-зондов, связанных с двумя различными флуоресцентными красителями (ООО “Тест-Ген”, Россия).

Межгенные взаимодействия между исследуемыми SNP при формировании ХОБЛ анализировали в 2х-, 3х- и 4х-локусных моделях с использованием метода снижения размерности (GMDR 0.9). Выявление моделей ген-генных взаимодействий проводили по алгоритму полного поиска (Exhaustive search algorithm). При этом отбор SNP для наилучших моделей, вовлеченных в развитие ХОБЛ, осуществлялся автоматически. По результатам их диагностической чувствительности и специфичности выявляли модели с наиболее высокой точностью предсказания (опытная взвешенная точность, %) и воспроизводимостью не менее 90%, которой соответствовал уровень значимости (p), не превышающий 0,0107.

Результаты и обсуждение. Предварительно для каждого полиморфного локуса был определен диагностический потенциал путем построения и анализа ROC-кривых отдельно для курящих и некурящих лиц (таблица 2).

Таблица 2 – Данные ROC-анализа при оценке диагностического потенциала изучаемых SNP

SNP	Площадь AUC	Чв.	Сп.	Стд. ошибка	p	Асимптотический 95%ДИ	
						нижняя граница	верхняя граница
Некурящие лица							
rs2243250	0,589	73,33	44,44	0,0587	0,1302	0,461	0,709
rs1800795	0,669	70,00	63,89	0,0588	0,0040	0,543	0,780
rs1800896	0,561	40,00	72,22	0,0592	0,3018	0,433	0,683
rs1800629	0,558	70,00	41,67	0,0596	0,3273	0,431	0,681
rs1801275	0,633	43,33	83,33	0,0558	0,0168	0,506	0,749
Курящие лица							
rs2243250	0,505	40,00	61,02	0,0443	0,9086	0,414	0,596
rs1800795	0,532	86,15	20,34	0,0341	0,3414	0,441	0,623
rs1800896	0,584	35,38	81,36	0,0393	0,0333	0,492	0,672
rs1800629	0,631	41,54	84,75	0,0388	0,0007	0,540	0,716
rs1801275	0,546	26,15	83,05	0,0369	0,2122	0,454	0,636

Далее был проведен анализ межгенных взаимодействий, в результате которого были установлены статистически значимые модели сочетанного влияния генов в развитии ХОБЛ у курильщиков и некурящих лиц (таблица 3). Одним из подходов многофакторного анализа при поиске ассоциаций генетических маркеров с риском развития полигенного заболевания является анализ всех доступных генетических данных. Это связано с тем, что роль определенного гена может быть выявлена только во взаимодействии с иными генами и не проявляться при рассмотрении каждого генетического маркера в отдельности [4]. Алгоритм многомерного снижения размерности, лежащий в основе биоинформатического метода GMDR, относится к непараметрическим методам анализа и не предполагает какой-то определенной модели наследования признака, поэтому может быть использован для анализа любых фенотипов без априорных предположений [5]. Таким образом, имеется возможность оценить уровень риска развития ХОБЛ при одновременном

носителем не просто нескольких SNP, но и конкретной комбинации генотипов.

Таблица 3 – Межгенные взаимодействия в мультилокусных моделях у курящих и некурящих людей

Вид мультилокусной модели	Опыт. ВТ	Контр. ВТ	ЧМ	СМ	χ^2 (p)	ВМ	Точность модели
Курящие лица							
rs1800629 (TNF α) * rs1801275 (IL4R)	0,6967	0,5867	0,5385	0,8475	10,1847 (p=0,0014)	8/10	0,7792
rs1800629 (TNF α) * rs1800795 (IL6) * rs1800896 (IL10)	0,7430	0,5628	0,5692	0,8983	15,16 (p<0,0001)	4/10	0,8484
rs1800629 (TNF- α) * rs1800795 (IL-6) * rs1800896 (IL-10) * rs1801275 (IL-4R)	0,8268	0,7289	0,6026	0,8552	24,31 (p<0,0001)	9/10	0,8791
Некурящие лица							
rs2243250 (IL-4) * rs1800795 (IL-6)	0,7268	0,6108	0,7000	0,7500	6,64 (p=0,0090)	9/10	0,7368
rs2243250 (IL-4) * rs1800795 (IL-6) * rs1800896 (IL-10)	0,7839	0,4908	0,8000	0,7500	9,92 (p=0,0016)	4/10	0,7619
rs2243250 (IL-4) * rs1800795 (IL-6) * rs1800896 (IL-10) * rs1800629 (TNF- α)	0,8694	0,7708	0,9000	0,8333	17,68 (p<0,0001)	9/10	0,8437

Примечания: опыт. ВТ – опытная взвешенная точность, контр. ВТ – контрольная взвешенная точность, ЧМ – чувствительность модели, СМ – специфичность модели, χ^2 – критерий значимости различий популяций по

Рисунок 1 – Распределение сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов rs1800629 (TNF α)*rs1800795 (IL6)*rs1800896 (IL10)*rs1801275 (IL4R) в группе курящих пациентов с ХОБЛ и здоровых людей

Примечание: здесь и на рисунке (2) темно-серые ячейки – генотипы повышенного риска, серые ячейки – генотипы пониженного риска, белые ячейки отсутствуют статистически значимые различия, пустые ячейки – отсутствие носителей генотипов; в каждой ячейке левый столбец – пациенты с ХОБЛ, правый столбец – здоровые лица, * – отношение шансов.

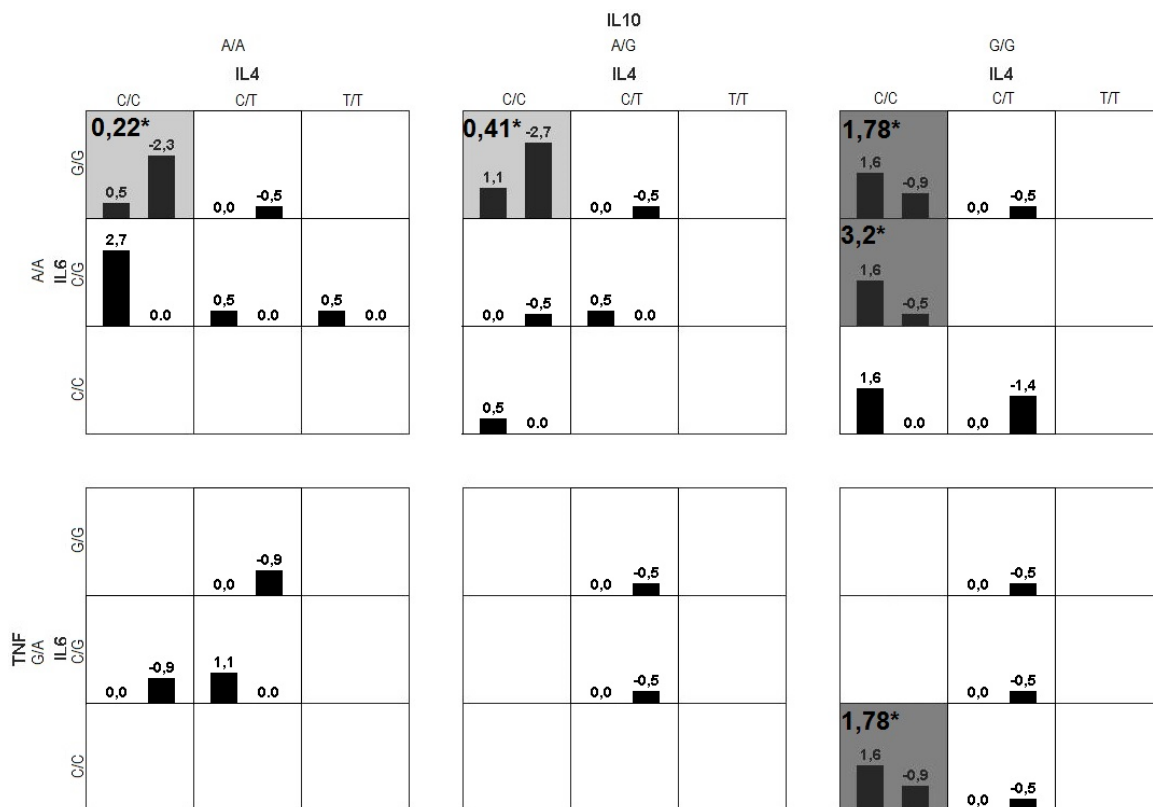


Рисунок 2 – Распределение сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов rs1800896 (IL10)*rs1800629 (TNF α)*rs1800795 (IL6)*rs12243250 (IL4) в группе некурящих пациентов с ХОБЛ и здоровых людей

Заключение:

1. У курящих людей сочетание полиморфных вариантов rs1800629 (TNF α)*rs1800795 (IL6)*rs1800896 (IL10)*rs1801275 (IL4R) дает возможность правильно предсказать вероятность развития ХОБЛ на основании значений отношения шансов с точностью 87,91%. При этом одновременное носительство генотипов G/G (rs1800629)*A/G (rs1801275)*G/G (rs1800896)*G/G (rs1800795) сочетается с наиболее низким риском развития ХОБЛ. Одновременное носительство генотипов G/A (rs1800629)*G/G (rs1801275)*A/G (rs1800896)*G/G (rs1800795) сопряжено с наиболее высокой вероятностью развития заболевания.

2. У некурящих людей сочетание полиморфизмов rs1800896 (IL10)*rs1800629 (TNF α)*rs1800795 (IL6)*rs12243250 (IL4) определяет вероятность развития ХОБЛ с диагностической эффективностью 84,37%.

Одновременное носительство генотипов A/A (rs1800896)*A/A (rs1800629)*G/G (rs1800795)*C/C (rs12243250) связано с наиболее низким риском развития ХОБЛ. Одновременное носительство генотипов G/G (rs1800896)*A/A (rs1800629)*C/G (rs1800795)*C/C (rs12243250) сопряжено с наиболее высокой вероятностью развития заболевания.

Список литературы

1. Roth, G.R. 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 // *Lancet*. – 2018. – Vol. 392, № 10159 – P. 1736–1788.
2. Halbert, R.J. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis / R. J. Halbert // *European Respiratory Journal*. – 2006. – Vol. 28, №3. – P. 523–532.
3. Association between chronic obstructive pulmonary disease and interleukins gene variants: A systematic review and meta-analysis / A. Ahmadi [et al.] // *Cytokine*. – 2019. – Vol. 117 – P. 65–71.
4. Lvovs, D. Полигенный подход к исследованиям полигенных заболеваний / D. Lvovs, O. O. Фаворова, A. B. Фаворов // *Acta Naturae*. – 2012. – Т. 4, №3(14). – С. 62–75.
5. Пономаренко, И. В. Использование метода multifactor Dimensionality reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор) / И. В. Пономаренко // *Научные результаты биомедицинских исследований*. – 2019. – Т. 5, №1. – С. 4–21.