DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.10.3.014>
УДК 616.24-036.12:575.174.015.3:613.84-056.8

Хотько Е.А., Таганович А.Д., Кадушкин А.Г.
Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Khotko E., Tahanovich A., Kadushkin A.
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Связь полиморфных вариантов генов с риском развития хронической обструктивной болезни легких в зависимости от статуса курения

Association of Gene Polymorphism Variants with the Risk of COPD Development Depending on the Smoking Status

Резюме

Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенное многофакторное заболевание, развитию которого способствуют неблагоприятные факторы окружающей среды, в особенности курение, и генетическая предрасположенность.

Цель. Изучение ассоциации полиморфизмов генов белков – участников патогенеза ХОБЛ с риском развития этого заболевания у курящих и некурящих людей.

Материалы и методы. Методом полимеразной цепной реакции проведено генотипирование полиморфных локусов генов rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs1801275 (IL4R), rs2243250 (IL4), rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs1800629 (TNF- α), rs2234693 (ESR1) и rs731236 (VDR) у 124 курильщиков и 66 некурящих лиц. В подгруппах, стратифицированных по статусу курения, проведен сравнительный анализ распределения частот генотипов между пациентами с ХОБЛ и здоровыми лицами путем вычисления критерия χ^2 и точного критерия Фишера. Определение вклада генотипов в формирование предрасположенности к ХОБЛ осуществлялось путем расчета показателя отношения шансов и соответствующего 95%-ного доверительного интервала. Статистическую обработку результатов осуществляли в программе SPSS. Анализ межгенного взаимодействия выполнен с использованием программы MDR.

Результаты. У курящих пациентов с ХОБЛ наиболее высокое отношение шансов (ОШ) имели генотипы AG и AA (rs1800896 гена IL10), GA/AA (rs1800629 гена TNF- α) и TC/CC (rs2234693 гена ESR1), а наиболее низкое – генотипы GG (rs1800896), GG (rs1800629) и TT (rs2234693). Для некурящих пациентов, страдающих ХОБЛ, высокие значения ОШ продемонстрировали генотипы CG (rs1800795 гена IL6) и AA (rs1801275 гена IL4R). Наиболее низкими значениями этого показателя были для генотипов CC (rs1800795) и AG/GG (rs1801275). При анализе межгенных взаимодействий методом многофакторного уменьшения размерности (MDR) у курильщиков наилучшей прогностической сбалансированной точностью (73,1%) обладало сочетание rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) и rs1800629 (TNF- α). У некурящих лиц самым высоким (69,8%) было значение этого показателя для сочетания rs1800795 (IL6) и rs1801275 (IL4R).

Выводы. На основании полученных данных создана модель межгенных взаимодействий для определения предрасположенности к ХОБЛ у курящих людей с точностью 73,1%.

Ключевые слова: полиморфизм генов, межгенные взаимодействия, хроническая обструктивная болезнь легких, курение, прогноз.

Abstract

Introduction. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a widespread multifactorial disease, the development of which is influenced by such adverse environmental factor as smoking and genetic predisposition.

Purpose. To investigate the association of polymorphisms in the genes of proteins involved in the pathogenesis of COPD with the risk of the disease development in smokers and non-smokers.

Materials and methods. The polymerase chain reaction method was used to genotype the polymorphic loci of the genes rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs1801275 (IL4R), rs2243250 (IL4956), IL68900s (TNF- α), rs2234693 (ESR1) and rs731236 (VDR) in 124 smokers and 66 non-smokers. In the subgroups stratified by smoking status, a comparative analysis of the distribution of genotype frequencies between patients with COPD and healthy individuals was carried out by calculating the χ^2 criterion and Fisher's exact test. The contribution of genotypes to the formation of susceptibility to COPD was determined by calculating the odds ratio and the corresponding 95% confidence interval. The results were statistically processed using the SPSS program. The analysis of intergenic interactions was performed using the MDR program.

Results. In smoking patients with COPD, the highest odds ratio (OR) was observed in the genotypes AG and AA (rs1800896 of the IL10 gene), GA/AA (rs1800629 of the TNF- α gene) and TC/CC (rs2234693 of the ESR1 gene), and the lowest – genotypes GG (rs1800896), GG (rs1800629) and TT (rs2234693). For non-smokers with COPD, high OR values were demonstrated by the genotypes CG (rs1800795 of the IL6 gene) and AA (rs1801275 of the IL4R gene). The lowest values of this indicator were for the genotypes CC (rs1800795) and AG/GG (rs1801275). When analyzing the intergenic interactions with multifactorial dimensionality reduction (MDR) in smokers, the combination of rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) and rs1800629 (TNF- α) had the best predictive balanced accuracy (73.1%). In non-smoking patients, the highest (69.8%) value of this indicator was for the combination of rs1800795 (IL6) and rs1801275 (IL4R).

Conclusions. On the base of the obtained data, the model of gene-gene interactions was revealed for determination of the predisposition to COPD in smokers with the accuracy of 73.1%.

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

■ ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется прогрессирующей обструкцией дыхательных путей [1]. В настоящее время она занимает третье место в структуре всех причин смертности в мире. В абсолютных цифрах это составляет 3,2 миллиона человек в год. Отмечается рост смертности от этого заболевания на уровне 17,5% за десятилетие [2].

Курение наиболее тесно связано с ХОБЛ. Оно приводит к формированию воспалительной реакции в легких и у 10–15% курильщиков – к развитию ХОБЛ [3]. По мнению других исследователей, реальная цифра значительно выше [4]. В пользу такого предположения приводится тот факт, что у курильщиков за каждый пятилетний период объем форсированного выдоха (ОФВ1) сокращается на несколько сотен миллилитров. Именно ОФВ1, если он меньше 70%, является критерием диагноза ХОБЛ.

Однако ХОБЛ была выявлена и у людей, которые никогда не курили. Так, исследования показывают, что в США 25% случаев ХОБЛ возникает у некурящих людей [5]. Среди городских жителей Беларуси это количество составляет 53,3% [6]. Эти наблюдения демонстрируют существование других причин развития этого заболевания.

Одну из причин связывают с генетической предрасположенностью [7]. Обследование родственников пациентов с ХОБЛ подтвердило, что повторные случаи заболевания в семьях пробандов являются результатом сосуществования генетических изменений и курения [8].

Проблема идентификации генетических маркеров, связанных с ХОБЛ, заключается в многообразии взаимодействий генов друг с другом. Например, разные гены могут характеризовать одни и те же фенотипические проявления (генетическая гетерогенность) или носительство одного и того же генотипа в определенной точке ДНК может приводить к формированию разных фенотипов (плейотропия). Мутировавшие гены могут определять фенотип только в присутствии экзогенных факторов (неполная пенетрантность), и наоборот.

Для того чтобы отобрать генетические маркеры и определить, как их взаимодействие связано с развитием ХОБЛ, широко используется подход, в основе которого изучение генов-кандидатов, белковые продукты которых вносят вклад в формирование патологического процесса. Ген проверяется на наличие полиморфизма, а носительство генотипов этого полиморфного локуса изучается на предмет их связи с риском развития ХОБЛ. Поиск возможных генетических маркеров предрасположенности нередко сосредоточен на полиморфизмах генов, кодирующих синтез про- и противовоспалительных цитокинов, их рецепторов и рецепторов гормонального контроля, поскольку в основе патогенеза ХОБЛ лежит развитие аномальной воспалительной реакции легочной ткани [9]. В частности, к ним относятся полиморфизмы rs4508917 (CXCL10), rs2280788 (CCL5), rs2228014 (CXCR4), rs333 (CCR5), rs1801275 (IL4R), rs2243250 (IL4), rs1800795 (IL6), rs1800896 (IL10), rs1800629 (TNF- α), rs2234693 (ESR1) и rs731236 (VDR) [10]. Ранее нами было показано изменение содержания соответствующих белковых молекул у пациентов с ХОБЛ в зависимости от тяжести заболевания и статуса курения [11].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение риск-ассоциированных с ХОБЛ полиморфизмов среди генов хемокинов, цитокинов, их рецепторов, а также рецепторов кальцитриола и эстрогенов у курящих и некурящих людей и оценка их прогностической значимости для развития этого заболевания.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 190 жителей Республики Беларусь, которые поступали в лечебные учреждения г. Минска в период с 2018 по 2020 год. Из их числа 124 человека являлись курящими и 66 человек – некурящими (табл. 1).

Всем обследуемым проводилось тестирование функции внешнего дыхания. Данные спирометрии и клинического обследования (согласно классификации GOLD, 2014) являлись основанием для постановки диагноза «хроническая обструктивная болезнь легких». Из числа здоровых

Таблица 1
Характеристика участников исследования

Table 1
Characteristics of the study participants

Параметр / Parameter	Курящие пациен-ты с ХОБЛ / COPD patients who smoke	Некурящие паци-енты с ХОБЛ / Non-smoking COPD patients	Курящие здо-ровые / Healthy smokers	Некурящие здо-ровые / Healthy non-smokers
Число пациентов / Number of patients	65	30	59	36
Возраст / Age	65,0 (62,0–68,0)	63,0 (61,0–67,0)	62,0 (59,0–65,0)	61,0 (59,0–64,0)
Пол, мужчины/женщины / Sex, male/female	58/7	22/8	47/12	27/9
Индекс курения, пачек-лет / Smoking index, pack-year	40,0 (25,0–52,9)	0	30,0 (20,0–35,0)	0

Примечание: результаты представлены как медиана (квартильный размах 25–75%).

Note: results are presented as median (quartile range 25–75%).

лиц исключались пациенты, у которых отсутствовали клинические симптомы ХОБЛ, но результаты спирометрии указывали на уровень ОФВ1 менее 80% и величину соотношения ОФВ1/ФЖЕЛ менее 70%. Независимо от наличия ХОБЛ, при обнаружении у обследуемых бронхиальной астмы, туберкулеза легких и других заболеваний бронхолегочной системы, а также при неспособности правильно выполнить дыхательный маневр при тестировании функции внешнего дыхания пациенты также исключались из исследования. Всеми пациентами подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Из лейкоцитов крови всех обследуемых выделялась ДНК с использованием реагентов коммерческого набора NucleoSpin Blood (MACHERY-NAGEL, Германия). Последующее генотипирование проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (детектирующий амплификатор BioRad CFX96, «Bio-Rad Laboratories», США). Для определения генотипа в каждом полиморфном локусе применяли TaqMan-зонды (ООО «Тест-Ген», РФ), комплементарные мажорной и минорной аллели. Детекцию флуоресценции определяли в соответствии с протоколом BioRad CFX96.

Статистическая обработка проводилась в пакете программ SPSS (версия 23.0). Оценку соответствия частот генотипов в сформированных выборках ожидаемым согласно правилу Харди – Вайнберга проводили в программе Microsoft Excel путем вычисления критерия χ^2 Пирсона. В этом случае нулевую гипотезу отвергали при $p \leq 0,05$.

Сравнение распределения частот в изучаемых подгруппах курящих и некурящих лиц с ХОБЛ с таковым в подгруппах здоровых лиц оценивали с помощью критерия χ^2 или точного критерия Фишера, если количество носителей генотипа/аллели было ≤ 5 . Для оценки связи генотипа с риском развития ХОБЛ вычисляли отношение

шансов (ОШ) и соответствующий 95%-ный доверительный интервал (95%-ный ДИ) в аддитивной, рецессивной, доминантной и мультипликативной генетических моделях [12]. Значения χ^2 считались значимыми при уровне $p < 0,05$, а ОШ – когда 95%-ный ДИ не пересекал 1. Протективными принимались генотипы, показатель ОШ которых составлял менее 1. Генотипам, повышающим риск ХОБЛ, соответствовало значение ОШ > 1 .

Для оценки межгенных взаимодействий между исследуемыми полиморфизмами использовали непараметрический метод многофакторного уменьшения размерности (MDR). MDR-анализ позволил оценить эпистатические эффекты путем отнесения всех комбинаций генотипов между взаимодействующими локусами к одной из двух групп: «высокий риск» или «низкий риск» развития заболевания на основе отношения случаев к контролю [13]. Параметрами оценки прогностической значимости многофакторной модели являлись точность предсказания (сбалансированная точность, %) и воспроизводимость (%).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

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 ($\chi^2 < 5,99$; $p > 0,05$). Существенные отличия по частоте встречаемости генотипов/аллелей в основной группе и группе сравнения имеются для полиморфных вариантов цитокинов rs1800896 (IL10), rs1800795 (IL6), rs2280788 (CCL5), rs1800629 (TNF- α), их рецепторов – rs1801275 (IL4R), rs333 (CCR5) и регуляторных молекул гормонального сигнала – rs2234693 (ESR1). Только для этих полиморфных локусов в дальнейшем были определены конкретные генотипы/аллели и их ассоциации, которые повышают или понижают риск развития ХОБЛ среди курильщиков и некурящих лиц (табл. 2–7).

Более низкая доля носителей мажорного генотипа AA у курящих здоровых лиц (18,6%) отмечена для полиморфизма rs1800896 (IL10) по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с ХОБЛ в группе курильщиков (35,4%) ($p = 0,021$) (табл. 2). Среди некурящих отсутствуют статистически значимые различия в распределении генотипов полиморфизма rs1800896 гена IL10 у больных и здоровых людей. Показатель сравнения ОШ курящих пациентов с ХОБЛ и контрольной группы курильщиков для гомозиготного генотипа AA составил 2,39 (95%-ный ДИ=1,04–5,48), что свидетельствует о повышенном риске развития ХОБЛ у курящих носителей этого генотипа.

Согласно данным С. Seifart с соавт., наличие аллельного варианта G ассоциировано с повышенным синтезом IL10, в то время как аллель А приводит к снижению продукции IL10 *in vitro* [14]. Поскольку этот белок относится к противовоспалительным цитокинам, было сделано заключение о том, что усиление воспалительного ответа связано с более низким уровнем IL10 и является причиной более тяжелого течения ХОБЛ [14]. В пользу такого вывода свидетельствует наличие положительной корреляции между уровнем IL10 и параметрами функции легких [15].

Таблица 2
Распределение частот генотипов rs1800896 (IL10) у курящих и некурящих людей

Table 2
Frequency distribution of rs1800896 (IL10) genotypes in smokers and non-smokers

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
IL10, rs1800896							
AA ¹	23 (35,4)	11 (18,6)	12 (40,0)	10 (27,8)	0,82 [0,34–2,00]	2,39 [1,04–5,48]	χ ² =4,48 (p>0,05)
AG	24 (36,9)	18 (30,5)	4 (13,3)	13 (36,1)	4,10 [1,28–13,1]	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]	0,37 [0,17–0,76]	
AA/AG ²	47 (72,3)	29 (49,2)	16 (53,3)	23 (63,9)	χ ² =3,31 (p>0,05)	2,70 [1,28–5,69]	χ ² =0,75 (p>0,05)
GG	18 (27,7)	30 (50,8)	14 (46,7)	13 (36,1)		0,37 [0,18–0,78]	
AG/GG ³	42 (64,6)	48 (81,4)	18 (60,0)	26 (72,2)	χ ² =0,19 (p>0,05)	0,42 [0,18–0,96]	χ ² =1,10 (p>0,05)
AA	23 (35,4)	11 (18,6)	12 (40,0)	10 (28,7)		2,39 [1,04–5,48]	
аллель A ⁴ / allele A ⁴	70 (53,8)	40 (33,8)	28 (46,7)	33 (45,8)	χ ² =0,85 (p>0,05)	2,28 [1,36–3,80]	χ ² =0,01 (p>0,05)
аллель G / allele G	60 (46,2)	78 (66,2)	32 (53,3)	39 (54,2)		0,44 [0,26–0,74]	

Примечания: в данной таблице, как и в таблицах 3–6: 1 – аддитивная; 2 – рецессивная; 3 – доминантная; 4 – мультипликативная модели наследования; * курящие vs некурящие пациенты с ХОБЛ; ** курящие пациенты с ХОБЛ и курящие здоровые лица; *** некурящие пациенты с ХОБЛ и некурящие здоровые лица; «–» отсутствие пациентов – носителей генотипа.

Notes: here and in the tables 3–6: 1 – additive; 2 – recessive; 3 – dominant; 4 – multiplicative genetic models; * smokers with COPD vs non-smokers with COPD; ** smokers with COPD vs healthy smokers; *** non-smokers with COPD vs healthy non-smokers; "–" the absence of carriers of the genotype.

Таким образом, обнаруженное нами отсутствие аллели G в составе генотипа и носительство генотипа AA у курильщиков является неблагоприятным фактором, повышающим вероятность развития ХОБЛ. Кроме того, результаты анализа ОШ показывают, что курение на фоне носительства AG увеличивает риск возникновения ХОБЛ в 4,10 раза (95%-ный ДИ=1,28–13,1). То есть даже наличие одной аллели A у курильщиков (rs1800896) повышает вероятность возникновения этого заболевания.

Данные о распределении генотипов среди некурящих здоровых лиц и пациентов с ХОБЛ указывают на то, что носители GG/CG полиморфного варианта rs1800795 (ген IL6) преобладают в группе пациентов (70,0%), но не в контрольной группе (36,1%) (табл. 3). При этом лишь носительство гетерозиготного генотипа повышает вероятность развития ХОБЛ у некурящих людей. Об этом свидетельствуют результаты расчета отношений шансов (ОШ=3,63; 95%-ный ДИ=1,22–10,8). Кроме того, при доминантном наследовании (наличие гомо- или гетерозиготного генотипов)

рисковой аллелью в составе генотипа является G (ОШ – 4,13). При этом вклад только полиморфной аллели G (rs1800795) у некурящих людей увеличивает вероятность развития ХОБЛ в 2,44 раза, если судить по рассчитанной величине ОШ.

Распределение генотипов rs2280788 гена CCL5 характеризуется преобладанием носителей CG у некурящих пациентов с ХОБЛ (20,0%) по сравнению со здоровыми некурящими людьми (2,8%). Однако оценка роли полиморфизма rs2280788 (ген CCL5) в формировании предрасположенности к ХОБЛ в зависимости от статуса курения не показала статистически значимой ассоциации с заболеванием (табл. 4).

Таблица 3

Распределение частот генотипов rs1800795 (IL6) у курящих и некурящих людей

Table 3
Frequency distribution of rs1800795 (IL6) genotypes in smokers and non-smokers

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
IL6, rs1800795							
CC ¹	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)	0,24 [0,09–0,68]
CG	39 (60,0)	30 (50,8)	14 (46,7)	7 (19,4)			3,63 [1,22–10,8]
GG	17 (26,2)	17 (18,9)	7 (23,3)	6 (16,7)			1,52 [0,45–5,15]
GG/CG ³	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)	4,13 [1,47–11,6]
CC	9 (13,8)	12 (20,3)	9 (30,0)	23 (63,9)			0,24 [0,09–0,68]
аллель C ⁴ / allele C ⁴	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)	0,41 [0,20–0,85]
аллель G / allele G	73 (56,2)	64 (54,2)	28 (46,7)	19 (23,4)			2,44 [1,18–5,06]

Таблица 4

Распределение частот генотипов rs2280788 (CCL5) у курящих и некурящих людей

Table 4
Frequency distribution of rs2280788 (CCL5) genotypes in smokers and non-smokers

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
CCL5, rs2280788							
CC ¹	56 (86,2)	56 (94,9)	24 (80,0)	35 (97,2)	χ ² =0,55 (p>0,05)	χ ² =0,13 (p>0,05)	0,11 [0,01–1,01]
CG	9 (13,8)	3 (5,1)	6 (20,0)	1 (2,8)			8,75 [0,99–77,4]
GG	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)			–

Окончание таблицы 4 / Table 4 end

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
CCL5, rs2280788							
CG/GG ³	9 (13,8)	3 (5,1)	6 (20,0)	1 (2,8)	$\chi^2=0,59$ (p>0,05)	$\chi^2=0,13$ (p>0,05)	8,75 [0,99–77,4]
CC	56 (86,2)	56 (94,9)	24 (80,0)	35 (97,2)			0,11 [0,01–1,01]
аллель C ⁴ / allele C ⁴	121 (93,1)	115 (97,5)	54 (90,0)	71 (98,6)	$\chi^2<0,001$ (p>0,05)	$\chi^2<0,001$ (p>0,05)	0,13 [0,02–1,08]
аллель G / allele G	9 (6,9)	3 (2,5)	6 (10,0)	1 (1,4)			7,89 [0,92–67,5]

Показатель ОШ, рассчитанный для полиморфизма rs1800629 (ген TNF- α), составил 0,25 (95%-ный ДИ=[0,11–0,60]; p=0,003) и показывает снижение вероятности ХОБЛ в 4 раза при носительстве генотипа GG у курильщиков (табл. 5). С другой стороны, генотипы, содержащие аллель А полиморфизма rs1800629, продемонстрировали связь с повышенным риском ХОБЛ на фоне курения. Так, гетерозиготное носительство GA увеличивает вероятность развития заболевания у курильщиков в 2,78 раза. Аналогичные результаты получены в азиатской популяции, где генотип GA связан с повышенным риском ХОБЛ у лиц, являющихся курильщиками [16]. Наконец, данные метаанализа сообщают, что носители генотипа AA имеют значительно более высокий риск развития ХОБЛ по сравнению с носителями GG [17].

Таблица 5
Распределение частот генотипов rs1800629 (TNF- α) у курящих и некурящих людей

Table 5
Frequency distribution of rs1800629 (TNF- α) genotypes in smokers and non-smokers

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
TNF-α, rs1800629							
GG ¹	38 (58,5)	50 (84,7)	21 (70,0)	21 (58,3)	χ ² =1,55 (p>0,05)	0,25 [0,11–0,60]	1,67 [0,60–4,64]
GA	21 (32,3)	9 (15,3)	6 (20,0)	12 (33,3)		2,78 [1,15–6,71]	0,50 [0,16–1,55]
AA	6 (9,2)	0 (0,0)	3 (10,0)	3 (8,4)		–	1,22 [0,23–6,55]
GG/GA ²	59 (90,8)	59 (100)	27 (90,0)	33 (91,7)	χ ² =1,00 (p>0,05)	χ ² =0,21 (p>0,05)	0,82 [0,15–4,39]
AA	6 (9,2)	0 (0,0)	3 (10,0)	3 (8,3)			1,22 [0,23–6,55]

Окончание таблицы 5 / Table 5 end

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
TNF-α, rs1800629							
GA/AA ³	27 (41,5)	9 (15,3)	9 (30,0)	15 (41,7)	1,66 [0,66–4,18]	3,95 [1,66–9,37]	0,60 [0,22–1,67]
GG	38 (58,5)	50 (84,7)	21 (70,0)	21 (58,3)	0,60 [0,24–1,52]	0,25 [0,11–0,60]	1,67 [0,60–4,64]
аллель G ⁴ / allele G ⁴	97 (74,6)	109 (92,4)	48 (80,0)	54 (75,0)	χ ² =0,66 (p>0,05)	0,24 [0,11–0,53]	χ ² =0,47 (p>0,05)
аллель A / allele A	33 (25,4)	9 (7,6)	12 (20,0)	18 (25,0)		4,12 [1,88–9,04]	

В группе некурящих людей 95%-ный ДИ, характеризующий статистическую значимость ОШ, включает в себя 1, что свидетельствует об отсутствии достоверной ассоциации генотипов rs1800629 с развитием ХОБЛ. Полученные нами результаты косвенно подтверждаются другими исследователями и, в свою очередь, объясняют их находки. В частности, известно, что присутствие аллели А в промоторе приводит к увеличению транскрипционной активности гена TNF-α [16]. Наряду с этим сообщается о значительном повышении уровня TNF-α в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми людьми. При этом анализ подгрупп курящих и некурящих показал, что уровень TNF-α на самом деле повышается только у курильщиков и не изменяется у некурящих пациентов с ХОБЛ [18].

Оценка частотного распределения носительства полиморфного варианта rs1801275 в структуре гена IL4R показывает статистически значимое увеличение доли носителей генотипа AA среди некурящих пациентов с ХОБЛ (43,3%) по сравнению со здоровыми некурящими (16,7%) (табл. 2). Показатель ОШ составил 3,82 (95%-ный ДИ=1,23–11,9), что указывает на увеличение предрасположенности к ХОБЛ у носителей этого генотипа (табл. 6).

Распределение генотипов rs333 гена CCR5 указывает на значимые различия ($p=0,021$) их носительства, но лишь среди курильщиков (табл. 6). Здоровые курильщики заметно реже (1,7%) являются носителями гетерозиготного или минорного гомозиготного генотипов, чем курящие пациенты с ХОБЛ (17,9%). Носительство вышеназванных генотипов в формировании предрасположенности к ХОБЛ не связано с риском развития заболевания. На это указывают рассчитанные 95%-ные ДИ. Мы полагаем, что причиной отсутствия связи с риском ХОБЛ в данном случае является отсутствие (DD) или ограниченное количество (ND) носителей делеций. Вместе с тем обнаруженная разница носительства генотипов этого полиморфного локуса у курящих пациентов с ХОБЛ и здоровых людей нуждается в осмыслении.

Таблица 6

Распределение частот генотипов rs1801275 (IL4R) и rs333 (CCR5) у курящих и некурящих людей

Table 6

Frequency distribution of rs1801275 (IL4R) and rs333 (CCR5) genotypes in smokers and non-smokers

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
IL4R, rs1801275							
AA ¹	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)	3,82 [1,23–11,9]
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 ³	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)	0,26 [0,08–0,81]
AA	17 (26,2)	10 (16,9)	13 (43,3)	6 (58,3)			3,82 [1,23–11,9]
CCR5, rs333							
NN ¹	55 (84,6)	58 (98,3)	29 (96,7)	31 (86,1)	$\chi^2=3,65$ (p>0,05)	0,19 [0,02–1,56]	$\chi^2=0,21$ (p>0,05)
ND	3 (4,6)	1 (1,7)	1 (3,3)	5 (13,9)		0,16 [0,02–1,56]	
DD	7 (10,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		–	

Примечания: NN – отсутствие делеции 32 п.н. в обоих хромосомах; ND – делеция 32 п.н. в одной из хромосом; DD – делеции 32 п.н. в обоих хромосомах.

Notes: NN – no 32 bp deletion in both chromosomes; ND – deletion of 32 bp in one of the chromosomes; DD – deletions of 32 bp in both chromosomes.

Мутация в точке rs333 представляет собой выпадение 32 пар нуклеотидов внутри гена. В результате образующийся рецептор не имеет трех последних трансмембранных доменов, что затрудняет его экспрессию на поверхность иммунокомпетентных клеток [19]. Рецептор CCR5 проходит обязательную посттрансляционную модификацию в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) путем фосфорилирования и мультимеризации. Белок, который является продуктом гена с делецией, способен к мультимеризации, но не способен к фосфорилированию [20]. Мультимер, состоящий из одного нормального рецептора и одного мутантного (CCR5/CCR5del32), не транспортируется на мембрану клетки для выполнения рецепторных функций [20]. Таким образом, есть основание предполагать, что носительство такого полиморфизма может приводить к аномальному развитию воспалительной реакции в легких.

Значения частот аллелей rs2234693 гена ESR1 в исследуемых группах демонстрируют преобладание носительства аллели С и генотипов с этой аллелью в подгруппе курящих пациентов с ХОБЛ (60,0%) по сравнению с курящими здоровыми людьми (28,8%) в доминантной модели

наследования (табл. 7). Более того, для курильщиков отмечена существенная ассоциация генотипов TC/CC с ХОБЛ, которая демонстрирует повышение риска развития заболевания при таком носительстве более чем в 2 раза (ОШ=2,13; 95%-ный ДИ=[1,12–4,06]; $p=0,022$). В литературе отсутствуют сведения, посвященные полиморфному локусу rs2234693 при ХОБЛ. Однако данные литературы подтверждают возможную причастность полиморфного локуса rs2234693 к развитию этого заболевания, поскольку однонуклеотидная замена тимина на цитозин снижает экспрессию гена ESR1 за счет нарушения связывания с факторами транскрипции [21].

Если попытаться суммировать полученные в ходе исследования данные, можно прийти к заключению о том, что курящие и некурящие люди являются носителями разных полиморфизмов, предрасполагающих к развитию ХОБЛ. Генотипами, связанными с повышенной вероятностью ХОБЛ у курильщиков, являются AG и AA (rs1800896 гена IL10), GA/AA (rs1800629 гена TNF- α) и TC/CC (rs2234693 гена ESR1). В то же время снижают вероятность развития ХОБЛ генотипы GG (rs1800896), GG (rs1800629) и TT (rs2234693). У некурящих лиц патогенетически значимыми являются генотипы CG (rs1800795 гена IL6) и AA (rs1801275 гена IL4R), которые сопряжены с повышенным риском развития ХОБЛ. Напротив, сниженная вероятность развития этого заболевания у некурящих людей характерна для носителей генотипов CC (rs1800795) и AG/GG (rs1801275).

Оценка комплексного влияния полиморфизмов, предрасполагающих к развитию ХОБЛ в зависимости от статуса курения, проводилась

Таблица 7
Распределение частот генотипов rs2234693 (ESR1) у курящих и некурящих людей

Table 7
Frequency distribution of rs2234693 (ESR1) genotypes in smokers and non-smokers

Генотип/ Аллель / Genotype/ allele	Частота встречаемости, n (%) / Frequency, n (%)				ОШ* [95% ДИ] / OR* [95% CI]	ОШ** [95% ДИ] / OR** [95% CI]	ОШ*** [95% ДИ] / OR*** [95% CI]
	Курящие / Smokers		Некурящие / Non-smokers				
	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy	ХОБЛ / COPD	Здоровые / Healthy			
ESR1, rs2234693							
TT ¹	26 (40,0)	42 (71,2)	13 (43,3)	19 (52,8)	$\chi^2=0,61$ (p>0,05)	$\chi^2=5,68$ (p>0,05)	$\chi^2=0,74$ (p>0,05)
TC	31 (47,7)	14 (23,7)	12 (40,0)	13 (36,1)			
CC	8 (12,3)	3 (5,1)	5 (16,7)	4 (11,1)			
TC/CC ³	39 (60,0)	17 (28,8)	17 (56,7)	17 (47,2)	$\chi^2=0,06$ (p>0,05)	2,13 [1,12–4,06]	$\chi^2=0,58$ (p>0,05)
TT	26 (40,0)	42 (71,2)	13 (43,3)	19 (52,8)		0,47 [0,25–0,90]	
аллель T ³ / allele T ³	83 (63,8)	98 (83,1)	38 (63,3)	51 (70,8)	$\chi^2=0,01$ (p>0,05)	0,53 [0,32–0,88]	$\chi^2=0,84$ (p>0,05)
аллель C / allele C	47 (36,2)	20 (16,9)	22 (36,7)	21 (29,2)		1,90 [1,14–3,16]	

с помощью программы MDR. Показано, что эффект гена полностью или частично зависит от взаимодействий с другими генами. То есть комбинация рисковых и протективных генотипов различных ОНП может характеризоваться иной предсказательной способностью [22].

В расчет принимались все те ОНП, для которых была установлена статистически значимая ассоциация с повышенным или пониженным риском развития ХОБЛ в любом типе наследования. В модели, характеризующие межгенные взаимодействия у курильщиков, были включены rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) и rs1800629 (TNF-α). Для моделирования эффекта ген-генного взаимодействия у некурящих людей были использованы IL6 (rs1800795) и rs1801275 (IL4R).

Таблица 8
Параметры прогностических мультилокусных моделей для курящих и некурящих людей

Table 8
Parameters of predictive multilocus models for smokers and non-smokers

Параметр / Parameter	Курильщики / Smokers	Некурящие / Non-smokers
Сбалансированная точность, % / Balanced accuracy, %	73,1	69,8
Чувствительность, % / Sensitivity, %	78,5	80,0
Специфичность, % / Specificity, %	67,8	63,3
Отношение шансов (95%-ный ДИ) / Odds ratio (95% CI)	7,67 (3,43–17,15)	6,91 (2,02–23,63)
χ^2 (хи-квадрат) / χ^2 (chi-square)	26,9 (p<0,0001)	10,4 (p=0,0013)
Воспроизводимость, % / Cross-validation consistency, %	100	100

Рис. 1. Распределение сочетаний рисковых и протективных генотипов у курильщиков

Примечания: здесь и в рис. 2 темно-серые ячейки – сочетание генотипов повышенного риска ХОБЛ; светло-серые ячейки – сочетание генотипов пониженного риска ХОБЛ; левые столбцы в каждой из ячеек – количество пациентов с ХОБЛ; правые столбцы в каждой из ячеек – количество здоровых людей; 0 – мажорные гомозиготы, 1 – гетерозиготы, 2 – минорные гомозиготы; цифры в центре каждой ячейки – величина ОШ; прочерк означает отсутствие носителей комбинации генотипов.

Fig. 1. Distribution of combinations of the risk and protective genotypes in smokers

Notes: here and in the fig. 2, dark gray cells – combination of genotypes of the increased risk of COPD; light gray cells – combination of genotypes of low risk of COPD; the left columns in each of the cells are the number of patients with COPD; the right columns in each of the cells are the number of healthy people; 0 – major homozygotes; 1 – heterozygotes; 2 – minor homozygotes; figures in the center of each cell – the value of OR; a dash means the absence of carriers of a combination of genotypes.

Рис. 2. Распределение сочетаний рисковых и протективных генотипов у некурящих людей

Fig. 2. Distribution of combinations of the risk and protective genotypes in non-smokers

Результаты анализа позволили отобрать те мультилокусные модели для курящих и некурящих людей, которые обладали наилучшими прогностическими признаками (табл. 8) и определяли неблагоприятные сочетанные носительства генотипов этих полиморфных локусов (рис. 1, 2).

Результаты MDR-анализа показали, что для курящих и некурящих людей наилучшие модели включали все отобранные ранее полиморфные локусы. Модель, характеризующая межгенные взаимодействия у курящих людей, обладала сбалансированной точностью 73,1%, а ее воспроизводимость составила 100%. Наиболее неблагоприятными сочетаниями генотипов, предрасполагающими к ХОБЛ, были AA rs1800896 (IL10), TC rs2234693 (ESR1) и GG rs1800629 (TNF- α), совместное носительство которых повышает риск развития заболевания в 3 раза (рис. 1).

Наилучшая модель, описывающая межгенные взаимодействия у некурящих людей, также определяет протективные и рисковые сочетания генотипов rs1800795 (IL6) и rs1801275 (IL4R) (рис. 2). Наиболее неблагоприятное влияние характерно для комбинации генотипов AA (rs1801275) и CG (rs1800795), повышающей вероятность ХОБЛ в 8 раз. Сбалансированная точность модели составила 69,8%, воспроизводимость – 100%.

■ ВЫВОДЫ

1. Носительство генотипов AG и AA (rs1800896 гена IL10), GA/AA (rs1800629 гена TNF- α) и TC/CC (rs2234693 гена ESR1) сопряжено с повышением вероятности развития ХОБЛ у курящих людей. Снижает риск ХОБЛ носительство генотипов GG (rs1800896), GG (rs1800629) и TT (rs2234693).
2. У некурящих лиц носительство генотипов CG (rs1800795 гена IL6) и AA (rs1801275 гена IL4R) увеличивает вероятность развития ХОБЛ, в то время как со снижением риска ХОБЛ сопряжено носительство генотипов CC (rs1800795) и AG/GG (rs1801275).
3. Разработанные модели межгенных взаимодействий в зависимости от статуса курения для оценки предрасположенности к ХОБЛ имеют

прогностическую значимость, которая у курильщиков составляет 73,1% и включает полиморфные локусы rs1800896 (IL10), rs2234693 (ESR1) и rs1800629 (TNF- α). Модель, характеризующая вероятность возникновения заболевания у некурящих людей, включает полиморфизмы rs1800795 (IL6) и rs1801275 (IL4R) и позволяет прогнозировать развитие ХОБЛ с точностью 69,8%.

Вклад авторов: Таганович А.Д. – концепция и дизайн исследования, редактирование текста; Хотько Е.А. – концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста; Кадушкин А.Г. – инструментальное обследование пациентов и сбор материала.

Authors' contribution: Tahanovich A. – conception and design of the study, editing the article; Khotko E. – conception and design of the study, acquisition, analysis and interpretation of data, manuscript preparation; Kadushkin A. – instrumental examination of patients and acquisition.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Henrot P. (2019) Chemokines in COPD: from implication to therapeutic use. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no 11, pp. 1–26. doi: 10.3390/ijms20112785
2. Halpin D.M.G. (2019) The GOLD Summit on chronic obstructive pulmonary disease in low- and middle-income countries. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, vol. 23, no 11, pp. 1131–1141.
3. Barnes P.J. (2017) Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD. *Clinical Science*, vol. 131, no 13, pp. 1541–1558.
4. Wise R.A. (2003) The effect of smoking intervention and an inhaled bronchodilator on airways reactivity in COPD: The Lung Health Study. *Chest*, vol. 124, no 2, pp. 449–458.
5. Behrendt C.E. (2005) Mild and moderate-to-severe COPD in nonsmokers: distinct demographic profiles. *Chest*, vol. 128, no 3, pp. 1239–1244.
6. Kadushkin A.G. (2013) *Epidemiologiya khronicheskoy obstruktivnoy bolezni legkikh u gorodskikh zhitel'ey* [Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease in urban residents]. *Healthcare*, no 7, pp. 21–25.
7. Palmer L.J. (2001) Familial aggregation and heritability of adult lung function: results from the Busselton Health Study. *European Respiratory Journal*, vol. 17, no 4, pp. 696–702.
8. McCloskey S.C. (2001) Siblings of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease have a significant risk of airflow obstruction. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 164, pp. 1419–1424.
9. Shukla R.K. (2012) Association of cytokine gene polymorphisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Oman Medical Journal*, vol. 27, no 4, pp. 285–290.
10. Khotko E.A. (2016) *Polimorfizm genov receptorov i ih ligandov pri khronicheskoy obstruktivnoy bolezni legkikh* [Polymorphism of receptor genes and their ligands in chronic obstructive pulmonary disease]. *Medical journal*, no 3, pp. 36–42.
11. Kadushkin A.G. (2013) *Uroven' tsitokinov v plazme krovi nekuryashchikh i kuryashchikh patsiyentov s khronicheskoy obstruktivnoy boleznyu legkikh* [Plasma cytokine levels in non-smoking and smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Russian Pulmonology Journal*, no 6, pp. 27–32.
12. Horita N. (2015) Genetic model selection for a case – control study and a meta-analysis. *Meta Gene*, vol. 5, pp. 1–8.
13. Pospiech E. (2015) Variants of SCARB1 and VDR involved in complex genetic interactions may be implicated in the genetic susceptibility to clear cell renal cell carcinoma. *BioMed Research International*, vol. 2015, pp. 1–11. doi: 10.1155/2015/860405
14. Seifart C. (2005) TNF- α , TNF- β , IL-6, and IL-10-promoter polymorphisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Tissue Antigens*, vol. 65, no 1, pp. 93–100.
15. Demeo D.L. (2008) IL10 polymorphisms are associated with airflow obstruction in severe alpha1-antitrypsin deficiency. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol. 38, no 1, pp. 114–120.
16. Reséndiz-Hernández J.M. (2018) TNF promoter polymorphisms are associated with genetic susceptibility in COPD secondary to tobacco smoking and biomass burning. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, vol. 2018, no 13, pp. 627–637.
17. Asl M.S. (2019) TNF- α -308 G/A variant and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*, vol. 123, pp. 1–5.
18. Yao Y. (2019) Association between tumor necrosis factor- α and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, vol. 13, pp. 1–17.
19. Barmania F. (2013) C-C chemokine receptor type five (CCR5): An emerging target for the control of HIV infection. *Applied & Translational Genomics*, vol. 2, pp. 3–16.
20. Benkirane M. (1997) Mechanism of transdominant inhibition of CCR5-mediated HIV-1 infection by ccr5delta32. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 272, no 49, pp. 30603–30606.
21. Koppelman G.H. (2011) Evidence of a genetic contribution to lung function decline in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 128, no 3, pp. 479–484.
22. Ritchie M.D. (2001) Multifactor-Dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. *The American Journal of Human Genetics*, vol. 69, no 1, pp. 138–147.

Подана/Submitted: 06.05.2021

Принята/Accepted: 06.09.2021

Контакты/Contacts: catherine.khotko@gmail.com, taganovich@bsmu.by, kadushkyn@gmail.com