

АНАЛИЗ МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ФОРМИРОВАНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

Нурғалиева А.Х.¹, Шаймарданова Э.Х.¹, Валова Я.В.¹, Гизатуллина А.А.¹, Габбасова Л.В.³, Курамшина О.А.³, Крюкова А.Я.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

²Институт биохимии и генетики, Уфимский научный центр РАН, Уфа, Россия

³Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Введение

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (ЯБ) является наиболее распространенным заболеванием среди патологий желудочно-кишечного тракта. Хотя смертность от ЯБ снизилась за последние годы, она по-прежнему представляет опасность для здоровья, чем серьезно влияет на качество жизни людей [1].

Предполагается, что отдельный генетический вариант имеет слабый индивидуальный эффект в отношении фенотипа, потому что в основе возникновения многофакторной патологии лежат сложные взаимодействия генетических и средовых факторов, которые необходимо учитывать при прогнозировании риска развития заболевания и разработки профилактических мероприятий. Поэтому комплексное изучение полиморфных вариантов генов, влияющих на возникновение и развитие ЯБ является актуальным, и возможно, позволит выделить патогенетически значимые комбинации полиморфных вариантов генов, ассоциированных с предрасположенностью к язве, что в свою очередь может способствовать прогнозу развития заболевания.

Цель и задачи

Целью данной работы является определение ключевых межгенных взаимодействий в развитии язвенной болезни.

В соответствии с целью выдвинуты следующие задачи:

1. Провести анализ распределения частот аллелей, генотипов полиморфных вариантов генов цитокинов и их рецепторов *IL8* (*rs4073*, *rs2227307*, *rs2227306*), *TNFA* (*rs1800629*), *IL10* (*rs1800872*, *rs1800896*), *IL1B* (*rs1143634*; *rs16944*), *IL1RA* (*rs71941886*), *CXCR1* (*IL8RA*) (*rs2234671*), *IL6* (*rs1800795*) у больных язвенной болезнью и индивидов контрольной группы.

2. Провести анализ распределения частот аллелей, генотипов полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ *MMP1* (*rs1799750*, *rs494379*), *MMP12* (*rs2276109*), *MMP3* (*rs3025058*), *MMP9* (*rs3918242*, *rs17576*), *MMP2* (*rs2285053*) и их тканевых ингибиторов *TIMP2* (*rs8179090*), *TIMP3* (*rs9619311*) у больных язвенной болезнью и индивидов контрольной группы.

Оценить роль межгенных взаимодействий в развитии язвы желудка и двенадцатиперстной кишки.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 317 больных ЯБ (102 русских, 144 татарина, 71 башкир) и 294 здоровых доноров (113 русских, 137 татар, 44 башкир) в возрасте 18-80 лет, проживающих в г. Уфа РБ. Диагноз язвенной болезни устанавливали на основании клинической картины и результатов клинико-лаборатор-

ного обследования принятых стандартов. Этническую принадлежность определяли на основании анкетных данных больных и индивидов контрольной группы. 159 пациентов имели инфекцию *H.pylori*, подтвержденную с помощью уреазного теста, а также серологическим и гистологическим методами. ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось с помощью метода ПЦР-ПДРФ и ПЦР в режиме реального времени. Анализ межгенных взаимодействий проводился с помощью программ MDR (Multifactor-Dimensionality Reduction) [2] и ее модифицированной версии, выпущенной позднее, GMDR (Generalized Multifactor-Dimensionality Reduction) [3]; SPSS Statistics.

Основные результаты

В рамках данного исследования проведен анализ молекулярно-генетических основ развития язвенной болезни в РБ. Исследованы 11 полиморфных вариантов в 7 генах цитокинов (*IL1B*, *IL1RA*, *IL6*, *IL8*, *IL8RA*, *IL10*, *TNFA*) и 9 полиморфных локусов в 7 генах матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов (*MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-3*, *MMP-9*, *MMP-12*, *TIMP-2*, *TIMP-3*). Данные о частотах аллелей, генотипов исследованных локусов и обнаруженных ассоциациях с риском развития ЯБЖ и ЯБДПК описаны ранее [4; 5].

В настоящей работе для моделирования межгенных взаимодействий были использованы программы MDR и GMDR с использованием алгоритма направленного поиска, что позволило выявить оптимальную модель межгенного взаимодействия, предсказывающую наличие или отсутствие предрасположенности к заболеванию. При выборе модели одним из критериев являлась сбалансированная точность, которая зависит от чувствительности и специфичности модели. В результате определения величины информации «I» для каждого гена в отдельности было показано, что наибольший вклад в развитие ЯБ вносят полиморфный локус *IL8*2227306* ($I=13.37$), *IL1B*16944* ($I=4.32$). Анализ межгенного взаимодействия методом MDR показал, что величина информации для комбинации полиморфного локуса *rs2227306* гена *IL8* и *rs1800795* гена *IL6* выше, чем величина информации для каждого ДНК-локуса по отдельности ($I=12.15$), что указывает на влияние комбинаций этих полиморфизмов на риск развития ЯБ. При этом выявлена тенденция к увеличению частоты встречаемости в группе контроля сочетания генотипов *rs1800795*GG/rs2227306*CC* ($p=0.05$).

Анализ сочетаний генотипов изученных генов с риском развития ЯБ в трех популяциях РБ выявил 6 сочетаний генотипов, которые являются маркерами повышенного риска развития ЯБ у татар и 4 сочетания генотипов

Таблица 1. Распределение сочетания генотипов изученных полиморфных вариантов генов у больных ЯБ и контрольной группы у русских и татар

Этногруппа	Сочетание	Контроль (%)	Больные (%)	P _{perm}	OR	CI _{OR}
Татары	<i>IL10rs1800872*C/IL1B rs16944*T/IL8rs2227306*T/IL8RA rs2234671*G</i>	4.17	37.50	0.014259	13.8	2.92-65.26
	<i>IL10rs1800872*C/IL8rs4073*T/MMP1rs1799750*GG</i>	38.18	73.77	0.020624	4.55	2.07-10.01
	<i>IL8rs4073*A/MMP1rs1144393*G/IL8rs2227306*T</i>	0.00	20.00	0.031333	7.35	2.41-22.43
	<i>IL10rs1800872*C/MMP9rs3918242*C/IL1B rs16944*T</i>	52.73	88.10	0.032325	6.63	2.27-19.4
	<i>MMP1rs1144393*G/TIMP2rs8179090*G/IL6rs1800796*G/IL8rs2227306*T</i>	0.00	28.30	0.032523	7.37	2.39-2.67
	<i>IL10rs1800872*C/MMP1rs1144393*G/IL6rs1800796*G/IL8rs2227306*T</i>	2.33	31.11	0.047	18.96	2.37-152.01
Русские	<i>MMP9rs3918242*C/MMP3rs3025058*5A/6A/TIMP3rs9619311*C</i>	48.19	4.55	8.52E-06	0.05	0.01-0.23
	<i>MMP3rs3025058*5A/6A/TIMP2rs8179090*G/TIMP3rs9619311*C</i>	49.35	2.94	2.76E-05	0.03	0.004-0.24
	<i>MMP3rs3025058*5A/6A/IL6rs1800796*G/TIMP3rs9619311*C</i>	51.28	5.71	7.32E-05	0.06	0.013-0.25
	<i>MMP3rs3025058*5/6/TIMP3rs9619311*C</i>	49.40	10.00	0.000127	0.11	0.04-0.32
	<i>MMP3rs3025058*6A/TIMP3rs9619311*C/IL8RA rs2234671*G/G</i>	40.51	4.35	0.000252	0.07	0.015-0.3
	<i>IL10rs1800872*C/IL6rs1800796*G/TIMP3rs9619311*C/IL8RA rs2234671*G/G</i>	41.43	0.00	0.000757	0.14	0.05-0.37
	<i>IL8rs2227307*T/TIMP3rs9619311*C/IL8RArs2234671*G/G</i>	39.24	4.55	0.000774	0.07	0.017-0.14
	<i>MMP1rs1799750*1/TIMP3rs9619311*C/IL8RA rs2234671*G/G</i>	41.10	5.00	0.001311	0.08	0.017-0.34
	<i>IL1B rs1143634*T/MMP3rs3025058*6A</i>	50.54	15.56	0.004008	0.18	0.07-0.44
	<i>MMP3rs3025058*5A/5A/IL8RA rs2234671*G</i>	15.38	46.94	0.006369	4.87	2.19-10.82
	<i>IL10rs1800872*A/IL8rs2227307*T/MMP3rs3025058*5A/6A</i>	31.58	2.63	0.012459	0.06	0.008-0.45
	<i>MMP9rs3918242*C/MMP3rs3025058*5A/5A</i>	15.79	45.65	0.016721	4.48	2.01-9.97
	<i>IL8rs2227307*T/TNF rs1800629*A/MMP2rs2285053*T</i>	0.00	19.35	0.044836	31.87	5.35-189.83
	<i>IL8rs4073*T/TNF rs1800629*A/MMP2rs2285053*T</i>	0.00	19.35	0.044836	31.87	5.35-189.83

изученных ДНК-локусов, ассоциированных с риском развития ЯБ у русских. Для русских также были определены маркеры пониженного риска развития описываемой патологии (табл.1). Для индивидов башкирской этнической принадлежности не было обнаружено достоверно значи-

мых различий в распределении частот гаплотипов между контрольной выборкой и больными ($p > 0.05$).

Выводы

Обнаружены 6 сочетаний генотипов, которые являются маркерами повышенного риска развития ЯБ у татар:

- IL10rs1800872*С/IL1B rs16944*Т/IL8rs2227306*Т/IL8RArs2234671*G,
 - IL10rs1800872*С/IL8rs4073*Т/MMP1rs1799750*GG,
 - IL8rs4073*А/MMP1rs1144393*G/IL8rs2227306*Т,
 - IL10rs1800872*С/MMP9rs3918242*С/IL1B rs16944*Т,
 - MMP1rs1144393*G/TIMP2rs8179090*G/IL6rs1800796*G/IL8rs2227306*Т,
 - IL10rs1800872*С/MMP1rs1144393*G/IL6rs1800796*G/IL8rs2227306*Т
- и 4 сочетания генотипов, ассоциированных с риском развития ЯБ у русских:
- MMP3rs3025058*5А/5А/IL8RArs2234671*G,
 - IL8rs2227307*Т/TNF rs1800629*А/MMP2rs2285053*Т,
 - IL8rs4073*Т/TNFrs1800629*А/MMP2rs2285053*Т,
 - MMP9rs3918242*С/MMP3rs3025058*5А/5А.

Список используемой литературы

1. Wang, S. Protective effects of Weilikang decoction on gastric ulcers and possible mechanisms / S. Wang, Y. Ni, J. Liu et al. // J. Nat. Med. – 2016. – DOI 10.1007/s11418-016-0985-1

2. Ritchie, M. D., Hahn, L. W., Roodi, N., Bailey, L. R., Dupont, W. D., Parl, F. F., & Moore, J. H. (2001). Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. *The American Journal of Human Genetics*, 69(1), 138-147.

3. Lou, X. Y., Chen, G. B., Yan, L., Ma, J. Z., Zhu, J., Elston, R. C., & Li, M. D. (2007). A generalized combinatorial approach for detecting gene-by-gene and gene-by-environment interactions with application to nicotine dependence. *The American Journal of Human Genetics*, 80(6), 1125-1137.

4. Нурғалиева А.Х., Шаймарданова Э.Х., Хидиятова И.М., Надыршина Д.Д., Габбасова Л.В., Курамшина О.А., Крюкова А.Я., Хуснутдинова Э.К. Ассоциация полиморфных вариантов генов цитокинов с язвенной болезнью в Республике Башкортостан // *Генетика*. – 2014. – Т.50 - №12 – С. 1483–1493.

5. Шаймарданова Э. Х., Нурғалиева А. Х., Хидиятова И. М., Габбасова Л. В., Курамшина О. А., Крюкова А. Я., Сагитов З. Б., Мунасыпов Ф. Р., Хуснутдинова Э. К. Роль аллельных генов матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в развитии язвенной болезни // *Генетика*. – 2016. – Т.52 – № 3. – С. 364-375.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ HLA-B27 АНТИГЕНА МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ГИБРИДИЗАЦИОННО-ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Косачева С.А., Кухтина Н.Б., Пак И.В.

ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

Введение. Набор антигенов (HLA-статус) уникален для каждого человека. От набора антигенов HLA зависит предрасположенность к разным заболеваниям. При этом известно, что гены МНС I класса отличаются высокой степенью полиморфизма. Так, для гена HLA-A известны порядка 60, для HLA-B – 136, а для гена HLA-C – 38 аллельных вариантов. Таким образом, молекула HLA-B27 является продуктом одного из аллельных вариантов гена HLA-B, характеризующегося определенной встречаемостью в различных популяциях людей. У здоровых представителей европеоидной расы антиген HLA-B27 встречается в 7-10 % случаев. В то же время он обнаруживается значительно чаще у больных с некоторыми аутоиммунными заболеваниями. В настоящее время HLA-B27 является хорошо изученным антигеном, имеющим большое значение в дифференциальной диагностике аутоиммунных болезней.

Цель и задачи. Целью данного исследования является оценка эффективности метода выявления антигена HLA-B27 в дифференциальной диагностике ассоциированных аутоиммунных заболеваний. Задачи – оптимизировать алгоритм лабораторного обследования пациентов с подозрением на наличие заболеваний аутоиммунной природы.

Материалы и методы. Данное исследование проводилось в период с 2013 по 2016 г. В исследование были включены пациенты, находящиеся на стационарном ле-

чении в отделениях больницы и направленные на амбулаторное обследование после консультации врача-ревматолога, с клиническими проявлениями артропатий, офтальмопатий виде острого увеита, хориоретинита, иридоциклита или подозрением на анкилозирующий спондилоартрит (болезнь Бехтерева), ревматоидный артрит, ювенильный ревматоидный артрит, реактивный артрит, псориатические и энтеропатические артропатии. За указанный промежуток времени обследовано 290 человек: 140 женщин (48,3%) в возрасте от 19 до 85 лет, 135 мужчин (46,5%) в возрасте от 19 до 86 лет, 10 подростков (3,5%) в возрасте от 13 до 18 лет (5 юношей и 5 девушек), 5 детей (1,7%) в возрасте от 4 до 9 лет (4 мальчика и 1 девочка). Средний возраст обследуемых – 46 лет. Среди обследованных преобладали пациенты отделения нефрологии – 79 (27,2%) и направленные на амбулаторное обследование по консультации врача-ревматолога – 52 (17,9%). Биоматериал для исследования – кровь с антикоагулянтом ЭДТА.

Исследования по выявлению аллели 27 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека (HLA-B27) проводились методом ПЦР в режиме реального времени с использованием комплекта реагентов компании «ДНК-технология» и применением амплификатора детектирующего ДТ-лайт (ООО «НПО ДНК-Технология») для детекции продуктов амплификации. Экстракция нуклеиновых кислот из биоматериала проводилась с