

На правах рукописи



ЛЕВЧЕНКО АРИНА СЕРГЕЕВНА

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХРОНИЧЕСКОГО ПОЛИПОЗНОГО
РИНОСИНУСИТА В ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ**

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Белгород – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель доктор медицинских наук, профессор
Полоников Алексей Валерьевич

Официальные оппоненты: **Зинченко Рена Абульфазовна**
Заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, заместитель директора по научно-клинической работе, заведующая лабораторией генетической эпидемиологии

Амелина Светлана Сергеевна
Доктор медицинских наук
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры гематологии и трансфузиологии с курсами клинической лабораторной диагностики, генетики и лабораторной генетики

Защита диссертации состоится «23» декабря 2022 г. в 10.00 на заседании диссертационного совета БелГУ.22.02 при ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» по адресу:
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» и на сайте <https://www.bsuedu.ru>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета БелГУ.22.02



Сорокина Инна Николаевна

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. Риносинусит принадлежит к числу самых частых патологий ЛОР-органов, и количество пациентов с этим заболеванием неуклонно растет. Принято выделять две формы синусита: острый (с сохранением симптомов до 12 недель) и хронический (ХРС) (продолжительностью более 12 недель) (Пискунов Г.З., Пискунов С.З., 1997). ХРС подразделяется на две группы: ХРС без полипоза носа (ПН) и хронический полипозный риносинусит (ХПРС) (Кирдеева А.И., Косяков С.Я., 2017). На сегодняшний день ХПРС одно из самых часто встречающихся патологий в оториноларингологической практике. По данным W.J. Fokkens et al. (2020), доля ХПРС среди взрослого населения составляет от 0,2 до 4,3% (Fokkens W.J. et al., 2020).

Этиопатогенез ХПРС сложен и многообразен. В этиопатогенезе ХПРС значимую роль играют как генетические, так и средовые факторы. На сегодняшний день наибольший интерес представляет генетическая гипотеза происхождения ХПРС. В настоящее время в изучении генетических механизмов ХПРС наибольший интерес представляют так называемые однонуклеотидные полиморфные варианты генов (single nucleotide polymorphisms, SNP) (Власенко Н.В. и др., 2021). Тестировался ряд генов-кандидатов ХПРС, среди которых выделяют связанные с метаболизмом арахидоновой кислоты, гены врожденного иммунитета, участвующие в иммунных реакциях с Т-хелперами 2 типа, гены ремоделирования синоназальной ткани, гены биотрансформации ксенобиотиков, а также другие гены (Dinarte V.R., 2017).

Степень разработанности темы. Известно, что цитокины играют ключевую роль в развитии воспаления. Причем как противовоспалительные, так и провоспалительные цитокины играют существенную роль в активации иммунокомпетентных клеток на разных этапах патогенеза ХПРС. В этой связи полиморфные варианты в структуре их генов могут иметь патогенетическое значение для развития воспалительных заболеваний, в том числе и ХПРС. В литературе имеется ряд работ, посвященных изучению вовлеченности SNPs генов цитокинов в развитие различных воспалительных заболеваний (Gedvilaite G. et al., 2019; Zhao B et al., 2019; Dimberg J. et al., 2020). Несмотря на повышенный интерес мирового научного сообщества к генетическим аспектам воспалительных заболеваний, открытыми остается целый ряд вопросов, касающихся роли полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии и клиническом течении ХПРС. Анализ литературных данных показал немногочисленность исследований по поиску ассоциаций SNPs генов цитокинов с предрасположенностью к ХПРС. Кроме того, данные исследования проведены на выборках крайне малого объема, что позволяет дать сделать выводы о роли данного класса генов в этиологии ХПРС. Отсутствуют данные и о роли полиморфных вариантов генов цитокинов в формировании клинической картины болезни и различных гистологических вариантов полипов носа. Связь SNPs генов цитокинов с объективной картиной ЛОР-органов, лабораторными и инструментальными данными при ХПРС также ранее не изучалась. Фактически до настоящего времени не проводилось комплексной оценки роли средовых факторов риска в развитии ХПРС. В выполненных отечественных и зарубежных исследованиях в отношении полиморфных вариантов генов цитокинов не анализировались межгенные и генно-средовые взаимодействия, детерминирующие предрасположенность к данной патологии. Таким образом, недостаток научных данных о вовлеченности полиморфных вариантов генов цитокинов в развитие и клиническое течение ХПРС обосновывает необходимость проведения настоящего исследования.

Цель исследования: Провести комплексный клинико-генетический анализ

вовлеченности полиморфных вариантов генов цитокинов в развитие и клиническое течение ХПРС у жителей Центральной России.

Задачи исследования:

1. Провести анализ частот вариантных аллелей SNPs генов цитокинов у жителей Центральной России. Проанализировать частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов цитокинов и исследовать их ассоциации с развитием хронического полипозного риносинусита у жителей Центральной России и провести репликационный анализ выявленных ассоциаций с болезнью в независимой популяции биобанка Великобритании.

2. Изучить взаимосвязь полиморфных вариантов генов цитокинов с возрастом дебюта и клиническими проявлениями хронического полипозного риносинусита, а также риском развития сопутствующей патологии бронхолегочной системы.

3. Провести анализ ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с объективными изменениями ЛОР-органов, установленными по результатам клинического, лабораторно-инструментального обследования пациентов с хроническим полипозным риносинуситом.

4. Осуществить комплексную оценку роли различных средовых факторов в развитии развития хронического полипозного риносинусита.

5. Исследовать совместную вовлеченность средовых факторов риска и полиморфных вариантов генов цитокинов в развитие хронического полипозного риносинусита.

6. Провести моделирование межгенных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с развитием хронического полипозного риносинусита, методом *mbmdr*.

7. С использованием различных биоинформатических инструментов выполнить функциональное аннотирование полиморфных вариантов генов цитокинов, ассоциированных с развитием и клиническими особенностями хронического полипозного риносинусита.

Научная новизна. В настоящей работе впервые проведен комплексный анализ вовлеченности полиморфных вариантов генов цитокинов в развитие хронического полипозного риносинусита и оценено их влияние на клинические особенности болезни. Исследование впервые установило совместную вовлеченность генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в этиопатогенез хронического полипозного риносинусита. Впервые проанализирован и установлен широкий спектр потенциальных средовых факторов, которые могут иметь важное этиологическое значение для формирования ХПРС. Впервые исследованы межгенные и генно-средовые взаимодействия и дана оценка их роли в детерминации предрасположенности к хроническому полипозному риносинуситу. Определена ведущая роль отдельных средовых факторов риска в развитии ХПРС. В частности, установлено, что полиморфные варианты генов цитокинов потенцируют влияния таких факторов среды, как курение, частые ОРВИ, стрессы, смена климата перед началом заболевания, изменения температуры на рабочем месте и влияние бытовой химии на риск развития ХПРС.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты данного исследования расширяют представления о вовлеченности полиморфных вариантов генов цитокинов в иммунопатологические процессы при ХПРС. Полиморфные варианты генов цитокинов являются значимыми детерминантами в оценке риска возникновения ХПРС и могут быть использованы для генетического тестирования предрасположенности к болезни в рамках проведения медико-генетического консультирования семей с ХПРС. Так, результаты исследования внедрены в практическую деятельность врачей оториноларингологического отделения ОБУЗ «Курская областная многопрофильная клиническая больница», врачей

централизованной медико-генетической консультации ОБУЗ «Курская областная многопрофильная клиническая больница», в учебную работу кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации при изучении дисциплины «оториноларингология» у студентов по направлению подготовки «Лечебное дело», «Педиатрия», «Медико-профилактическое дело», «Стоматология», а также внедрены в практическую деятельность врачей оториноларингологического отделения № 1 БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1» и в учебную работу кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет» им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации при изучении дисциплины «оториноларингология» у студентов по направлению подготовки «Лечебное дело», «Педиатрия», «Медико-профилактическое дело». Разработка способов вероятностного прогнозирования риска развития ХПРС на основе оценки полиморфных вариантов генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов позволит оптимизировать и индивидуализировать лечебные и профилактические мероприятия у пациентов с высоким риском формирования этого заболевания.

Методология и методы исследования. Методология исследования включала анализ SNPs генов цитокинов, а также их роль в межгенных и гено-средовых взаимодействиях, ассоциированных с предрасположенностью к ХПРС. Данное исследование было выполнено на репрезентативных выборка пациентов с ХПРС (N=408) и контрольной группы (N=551), всего 959 человек. В работе были использованы современные общеклинические, лабораторно-инструментальные, молекулярно-генетические, генетико-статистические, а также биоинформатические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. SNPs генов цитокинов являются значимыми маркерами генетической предрасположенности к ХПРС и их роль в формировании болезни характеризуется пол-специфическими особенностями.

2. Полиморфные варианты генов цитокинов ассоциированы с клиническими симптомами хронического полипозного риносинусита, объективными клиническими изменениями ЛОР-органов, а также клинко-лабораторными и инструментальными показателями.

3. Установлено, что существенный вклад в развитие хронического полипозного риносинусита вносят средовые факторы, как химической природы (курение, частый контакт с бытовой химией, проживание вблизи промышленных предприятий), так и физические (смена места пребывания перед началом заболевания, повышенная/пониженная влажность воздуха на рабочем месте и переохлаждения/перегревания на рабочем месте) и биологические (частые ОРВИ) факторы риска.

4. Влияние полиморфных вариантов генов цитокинов на риск хронического полипозного риносинусита, как у мужчин, так и у женщин опосредуется действием средовых факторов, таких как: курение, частые ОРВИ, контакт с бытовой химией, смена мест пребывания перед началом заболевания и изменения влажности воздуха на рабочем месте.

5. В детерминации предрасположенности к хроническому полипозному риносинуситу важную роль играют взаимодействия между различными полиморфными вариантами генов цитокинов, эффекты которых реализуются через иммуно-воспалительные и пролиферативные изменения в тканях.

6. Полиморфизмы генов цитокинов являются функционально значимыми вариантами,

влияющих на экспрессию генов, и их регуляторные эффекты модулируются посредством модификации гистонов, метилирования и аллель-специфического связывания транскрипционных факторов.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных данных обусловлена репрезентативной выборкой пациентов, корректным отбором кандидатов с учетом критериев включения и исключения, применением современных молекулярно-генетических и статистических методов. Используемые в диссертационной работе методы молекулярно-генетического, биоинформатического, генетико-статистического анализа свидетельствуют об обоснованности результатов исследования.

Материалы диссертационного исследования доложены на 82-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Молодёжная наука и современность», посвящённой 82-летию Курского государственного медицинского университета, 19-20 апреля 2017 г., Курск; VII Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения-2017», 6-8 декабря 2017 г., г. Санкт-Петербург; III Всероссийском конгрессе «Актуальные вопросы оториноларингологии» национальной медицинской ассоциации оториноларингологов России, 20-22 ноября 2019 г., г. Нижний Новгород; IX международном Петербургском форуме оториноларингологов России, 5-7 октября 2020 г., г. Санкт-Петербург; III медицинском форуме «Актуальные вопросы медицины. Соловьиный край», 27-29 ноября 2018 г., г. Курск; Ежегодной конференции Российского общества ринологов, 24-25 мая 2018 г., г. Санкт-Петербург; IV Всероссийском форуме оториноларингологов России с международным участием «Междисциплинарный подход к лечению заболеваний головы и шеи», 20-21 сентября 2018 г., г. Москва; научно-практической конференции оториноларингологов Центрального Федерального округа «Актуальные вопросы оториноларингологии и аллергологии», 18 ноября 2021 г., г. Воронеж; международной научной конференции «Университетская наука: взгляд в будущее», посвящённой 87-летию Курского государственного медицинского университета, 4 февраля 2022 г., Курск.

Личный вклад автора. Диссертантом лично выполнен поиск и анализ отечественной и зарубежной литературы по тематике исследования, произведен отбор генов и полиморфизмов, проведено анкетирование и комплексное обследование всех пациентов, произведен забор венозной крови для молекулярно-генетического исследования. Диссертант самостоятельно выполнял выделение ДНК из крови, а также проводил генотипирование ДНК-полиморфизмов. Диссертантом лично проведен статистический и биоинформатический анализ полученных результатов, а также интерпретация полученных данных. Диссертантом лично подготовлены рукопись и автореферат диссертации.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ, из них 2 статьи в научных изданиях, включенных в мировые базы данных научного цитирования (Web of Science/Scopus).

Структура и объем диссертации. Структура диссертационной работы состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных описанию материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, а также обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы и приложений. Работа представлена на 233 страницах машинописного текста, включает 43 таблицы, 7 рисунков и 23 приложений. Список литературы состоит из 245 источников, из которых 192 – зарубежные.

Основное содержание работы

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили выборки неродственных пациентов с ХПРС (N=408) и здоровых индивидов (N=551) – жителей Центральной России (ЦР) (преимущественно уроженцев Курской области). Возрастной диапазон находился в интервале от 18 до 60 лет. Средний возраст пациентов с ХПРС составил $49,6 \pm 8,7$ года, у здоровых лиц – $37,7 \pm 13,3$ года ($P < 0,01$). Сбор клинического и биологического материалов проводился в период с 2016 г. по 2018 г. на базе ЛОР-отделений БМУ «Курской областной многопрофильной клинической больницы», Курской городской больницы № 1 им. Н.С. Короткова, а также городской больницы № 1 г. Старого Оскола. Критериями включения пациентов в исследование служили: славянское происхождение, наличие хронического полипозного риносинусита; риносинусит легкой или среднетяжелой степени выраженности, состояние ремиссии при сопутствующих соматических заболеваниях, наличие информированного согласия на участие в исследовании. Группа контроля, состоявшая из 229 (41,6%) женщин и 322 (58,4%) мужчин, формировалась из добровольцев без ХПРС, с отсутствием гнойных заболеваний лор-органов (в том числе в анамнезе), простудных заболеваний в течение 6 месяцев, с субъективным ощущением свободного носового дыхания, с наличием информированного согласия на участие в исследовании. Не включались в исследования лица, соответствующие следующим критериям: возраст моложе 18 и старше 60 лет, состояние беременности и лактации; наличие риногенных орбитальных или внутричерепных осложнений; наличие цилиопатий, заболеваний кроветворной системы, одонтогенного, вирусного, посттравматического, постожогового, грибкового риносинусита; онкологии; состояние декомпенсации сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, декомпенсированные формы заболеваний сердечно-сосудистой системы, печени, почек и другие), которые могли бы исказить результаты исследования, а также отсутствие информированного добровольного согласия. Исследование выполнено с одобрения Регионального этического комитета ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (Протокол № 8 от 10 октября 2016 г.).

Молекулярно-генетические исследования. Всем участникам исследования был произведен забор 6 мл крови из кубитальной вены в вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). После забора биологического материала его хранили при температуре -20°C до процедуры выделения геномной ДНК. Молекулярно-генетический анализ осуществлялся в лаборатории геномных исследований НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. Методом фенол-хлороформной экстракции в два этапа проводилась процедура выделения геномной ДНК из крови. Далее осуществлялось генотипирование SNPs методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США) в соответствии с опубликованными в литературе протоколами. Синтез праймеров и TaqMan-зондов для ПЦР выполнялся компанией «Синтол» (г. Москва). Для всех олигонуклеотидов были подобраны подходящие условия – рассчитана концентрация MgCl_2 и уровень температуры для отжига праймеров. С целью проверки качества генотипирования случайно было отобрано 95 образцов. После чего было проведено повторное генотипирование по всем исследуемым полиморфным маркерам, результат которого на 100% совпал с первоначальными данными.

Статистический и биоинформатический анализ. С целью оценки соответствия распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга (ХВ) и при сравнении качественных показателей использовался критерий хи-квадрат (χ^2). Для количественных данных,

соответствующих нормальному распределению, при сравнении двух групп использовался *t*-критерий Стьюдента. Для оценки количественных данных с ненормальным распределением при сравнении двух групп использовался *U*-критерий Манна-Уитни, при сравнении более трех групп – критерий Крускала-Уоллиса (Реброва О.Ю., 2006). Значение относительного риска (OR) служило критерием оценки ассоциаций аллелей и генотипов с риском формирования ХПРС. В случае если OR равно 1, считали, что обе выборки имеют равные вероятности и отличия в двух группах отсутствуют. Если OR больше 1, то принимали во внимание, что риск возникновения исхода увеличивается, если меньше 1 – то уменьшается (Бакаева О.А. и др., 2012). Анализ верхнего и нижнего значений 95% доверительного интервала (95% CI) проводился для оценки статистически значимых различий между выборками (Иванов О.В., 2005). Если в доверительный интервал входило значение 1, это означало отсутствие статистической значимости (Фещенко Ю.И. и др., 2010). Для проверки статистических гипотез оценивали полученный уровень значимости (*P*) с критическим – $P \leq 0,05$. Нулевая гипотеза отвергалась, если $P > 0,05$. Уровень значимости оценивался с учетом поправки на множественность тестов процедурой FDR – расчетом частоты ложноположительных результатов *Q* с использованием online-калькулятора (URL: <https://www.sdmproject.com/utilities/?show=FDR>). Учитывая, что отдельные SNP обладают слабыми эффектами на фенотип, критический уровень FDR принимали $Q \leq 0,20$, как было предложено Li с соавторами (Li A. et. al., 2019). Статистические расчеты проводились при помощи программного обеспечения Statistica 13.0 и MS Excel 2010, а также интернет-ресурса SNPStats (URL: <https://www.snpsstats.net/start.htm>). Для проведения сравнительного анализа распределения частот аллелей в различных популяциях мира использовался интернет-портал Ensembl (URL: <https://www.ensembl.org/index.html>). Оценку генно-средовых взаимодействий осуществляли на основе результатов анкетирования пациентов. Анализ дозозависимого эффекта курения на риск развития ХПРС осуществлялся при помощи квартильного метода ранжирования: сначала были рассчитаны медиана, первый и третий квартили, тем самым были сформированы 4 группы по количеству выкуриваемых сигарет. Третья и четвертая группы были объединены, после чего в каждой из трех групп рассчитывались ассоциации SNPs. Анализ ассоциаций парных комбинаций генотипов с предрасположенностью к ХПРС осуществлялся при помощи программного обеспечения Statistica 13 (Statsoft, США). Методом MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) (Yang C.H et.al. 2018; Ritchi M.D. et. al. 2015) в модификации M.L. Calle (2010) (Calle M.L. et al., 2010) выполнялось моделирование межгенных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с ХПРС. Модифицированным методом MDR – Model-Based-MDR (MB-MDR), с использованием статистического пакета mbmdr для R версии 3.5.3 (Calle M.L. et al., 2010) проводился анализ моделей. Для проведения репликационного анализа ассоциаций SNPs генов цитокинов с носовыми полипами и другими клинически значимыми фенотипами в независимой популяции использовались данные интернет-порталов UK biobank «GeneAtlas» (URL: <http://geneatlas.roslin.ed.ac.uk/>), «Common metabolic disease knowledge portal» (URL: <https://hugeamp.org/>) и «Lung disease knowledge portal» (<https://lung.hugeamp.org/>). Для аннотирования биологических процессов и метаболических путей исследуемых генов использовались: «Enrichr» (URL: <https://maayanlab.cloud/Enrichr/>), «GeneCards» (URL: <https://www.genecards.org/>) и «UniProt» (URL: <https://www.uniprot.org/>). С помощью биоинформатического интернет-ресурса «HaploReg v.4.1» (URL: <https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) и «SNPinfo Web Server» (URL: <https://snpinfinfo.niehs.nih.gov/>) осуществлялась оценка регуляторного потенциала

исследуемых SNPs. Интернет-ресурсы «eQTLGen» (URL: <https://www.eqtlgen.org/>), «GTExPortal» (URL: <https://gtexportal.org/home/>) и «QTLbase» (URL: <http://www.mulinlab.org/qtlbase>) были использованы с целью выявления cis- и trans-eQTL-эффектов изучаемых SNP. Для предсказания участков связывания для факторов транскрипции с SNP использовался биоинформатический инструмент «atSNP search» (URL: <http://atsnp.biostat.wisc.edu/search>).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов цитокинов у жителей Центральной России. Выявлено, что частоты минорных аллелей (minor allele frequency, MAF) исследуемых SNPs генов цитокинов среди жителей ЦР составляют от 7% до 46%. Наименьшие значения MAF установлены для минорных аллелей rs1800796-С гена *IL6* (0,07) и rs1799964-С гена *TNF* (0,18). При сравнении MAF всех исследуемых полиморфных вариантов установлены статистически значимые различия в распределении частот аллелей ($P < 0,05$, $Q < 0,20$) между популяциями жителей ЦР и африканцами, американцами и южными азиатами. Выраженные различия в частотах минорных аллелей выявлены и при сравнении MAF полиморфных вариантов генов цитокинов жителей ЦР с восточными азиатами, за исключением rs1799964-С гена *TNF* ($P > 0,05$, $Q > 0,20$).

При анализе MAF у жителей ЦР в сравнении с европейцами установлены статистически значимые различия для следующих SNPs генов цитокинов: rs1800796-С ($P = 0,0002$, $Q = 0,0005$) и rs1800795-С гена *IL6* ($P = 0,004$, $Q = 0,007$), rs1799964-С гена *TNF* ($P = 1,95 \times 10^{-142}$, $Q = 1,37 \times 10^{-141}$) и rs1800925-Т гена *IL13* ($P = 1,08 \times 10^{-12}$, $Q = 3,78 \times 10^{-12}$). Таким образом, выявлена неоднородность частот аллелей исследуемых SNPs генов цитокинов в сравнении с частотами аллелей в различных популяциях мира.

При оценке распределения частот генотипов SNPs генов цитокинов в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга (PXB) rs1800925 гена *IL13* продемонстрировал статистически значимое отклонение частот генотипов от PXB вследствие относительно низкого уровня гетерозиготности в исследуемой нами популяции ($P = 0,002$, $Q = 0,01$).

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов цитокинов с риском возникновения хронического полипозного риносинусита. Установлено, что у жителей Центральной России аллели rs1929992-С гена *IL33* ($P = 0,02$, $Q = 0,07$) и rs1799964-С гена *TNF* ($P = 0,02$, $Q = 0,07$) ассоциированы с пониженной предрасположенностью к развитию ХПРС. Повышенный риск формирования ХПРС был обусловлен ассоциацией с rs1800795 гена *IL6* ($P = 0,0001$, $Q = 0,0007$) вне зависимости от возраста и пола исследуемых. В данном случае у пациентов с ХПРС имела место повышенная частота генотипа G/C в сравнении со здоровыми индивидами. Протективное действие в отношении предрасположенности к ХПРС оказывал генотип C/C SNP rs1799964 гена *TNF* ($P = 0,03$, $Q = 0,06$). Статистически значимых различий в частотах аллелей SNPs генов цитокинов у мужчин не выявлено. Тем не менее, повышенная вероятность развития ХПРС у мужчин была ассоциирована с rs1800795 ($P = 0,0002$, $Q = 0,001$) и rs1800796 ($P = 0,02$, $Q = 0,06$) гена *IL6*. И в том, и в другом случае наблюдалась повышенная частота генотипа G/C у больных мужчин в сравнении со здоровыми мужчинами (таблица 1).

Продолжение таблицы 1

Генотип, аллель	Больные ХПРС	Группа контроля	Больные ХПРС	Группа контроля	Больные ХПРС	Группа контроля	OR (95% CI) ¹	P^2/Q^3	OR (95% CI) ⁴	P/Q	OR (95% CI)	P/Q
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)						
	общая выборка		мужчины		женщины		общая выборка		мужчины		женщины	
IL33, rs1929992												
T/T	194 (47,5)	224 (40,6)	122 (47,5)	130 (40,4)	72 (47,7)	94 (41)	1,00	0,15 / 0,26	1,00	0,22 / 0,51	1,00	0,54 / 0,72
T/C	178 (43,6)	260 (47,2)	113 (44)	149 (46,3)	65 (43)	111 (48,5)	0,92 (0,68–1,26)		0,86 (0,59–1,26)		1,08 (0,64–1,81)	
C/C	36 (8,8)	67 (12,2)	22 (8,6)	43 (13,3)	14 (9,3)	24 (10,5)	0,61 (0,37–1,01)		0,58 (0,31–1,08)		0,67 (0,29–1,56)	
T	0,694	0,642	0,695	0,635	0,692	0,653	0,79 (0,65–0,96)	0,02 / 0,07	0,77 (0,60–0,98)	0,03 / 0,21	0,84 (0,61–1,14)	0,26 / 0,36
C	0,306	0,358	0,305	0,365	0,308	0,347						
IL1B, rs1143627												
A/A	192 (47,1)	252 (45,7)	113 (44)	146 (45,3)	79 (52,3)	106 (46,3)	1,00	0,81 / 0,81	1,00	0,99 / 0,99	1,00	0,48 / 0,72
A/G	166 (40,7)	232 (42,1)	108 (42)	137 (42,5)	58 (38,4)	95 (41,5)	0,93 (0,68–1,27)		1,02 (0,69–1,50)		0,80 (0,48–1,35)	
G/G	50 (12,2)	67 (12,2)	36 (14)	39 (12,1)	14 (9,3)	28 (12,2)	0,87 (0,55–1,39)		1,03 (0,59–1,80)		0,63 (0,27–1,47)	
A	0,674	0,668	0,650	0,666	0,715	0,670	0,97 (0,80–1,18)	0,78 / 0,90	1,08 (0,84–1,37)	0,56 / 0,77	0,81 (0,59–1,11)	0,19 / 0,33
G	0,326	0,332	0,350	0,334	0,285	0,330						

Продолжение таблицы 1

Генотип, аллель	Больные ХПРС	Группа контроля	Больные ХПРС	Группа контроля	Больные ХПРС	Группа контроля	OR (95% CI) ¹	P^2/Q^3	OR (95% CI) ⁴	P/Q	OR (95% CI)	P/Q
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)						
	общая выборка		мужчины		женщины		общая выборка		мужчины		женщины	
IL10, rs3024496												
A/A	123 (30,1)	187 (33,9)	77 (30)	106 (32,9)	46 (30,5)	81 (35,4)	1,00	0,63 / 0,74	1,00	0,83 / 0,97	1,00	0,67 / 0,72
A/G	201 (49,3)	257 (46,6)	131 (51)	151 (46,9)	70 (46,4)	106 (46,3)	1,11 (0,80–1,55)		1,13 (0,75–1,70)		1,07 (0,62–1,86)	
G/G	84 (20,6)	107 (19,4)	49 (19,1)	65 (20,2)	35 (23,2)	42 (18,3)	1,22 (0,80–1,85)		1,13 (0,67–1,90)		1,36 (0,68–2,72)	
A	0,548	0,573	0,554	0,564	0,536	0,585	1,11 (0,92–1,33)	0,30 / 0,53	1,04 (0,82–1,31)	0,75 / 0,77	1,22 (0,91–1,63)	0,18 / 0,33
G	0,452	0,427	0,446	0,436	0,464	0,415						
TNF, rs1799964												
T/T	290 (71,1)	355 (64,4)	182 (70,8)	221 (68,6)	108 (71,5)	134 (58,5)	1,00	0,03 / 0,06	1,00	0,48/ 0,67	1,00	0,003 / 0,02
T/C	106 (26)	169 (30,7)	64 (24,9)	90 (27,9)	42 (27,8)	79 (34,5)	0,75 (0,54–1,04)		0,78 (0,52–1,18)		0,70 (0,41–1,21)	
C/C	12 (2,9)	27 (4,9)	11 (4,3)	11 (3,4)	1 (0,7)	16 (7)	0,41 (0,19–0,89)		0,80 (0,31–2,05)		0,06 (0,01–0,53)	
T	0,841	0,798	0,833	0,826	0,854	0,758	0,75 (0,59–0,95)	0,02 / 0,07	0,95 (0,70–1,30)	0,77/ 0,77	0,54 (0,37–0,79)	0,002 / 0,01
C	0,159	0,202	0,167	0,174	0,146	0,242						

Продолжение таблицы 1

Генотип, аллель	Больные ХПРС	Группа контроля	Больные ХПРС	Группа контроля	Больные ХПРС	Группа контроля	OR (95% CI) ¹	P^2/Q^3	OR (95% CI) ⁴	P/Q	OR (95% CI)	P/Q
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)						
	общая выборка		мужчины		женщины		общая выборка		мужчины		женщины	
<i>IL13, rs1800925</i>												
C/C	226 (55,4)	317 (57,5)	152 (59,1)	188 (58,4)	74 (49)	129 (56,3)	1,00	0,02/ 0,06	1,00	0,41/ 0,67	1,00	0,44 / 0,72
C/T	135 (33,1)	197 (35,8)	80 (31,1)	116 (36)	55 (36,4)	81 (35,4)	0,91 (0,67–1,25)		0,88 (0,60–1,30)		0,95 (0,56–1,62)	
T/T	47 (11,5)	37 (6,7)	25 (9,7)	18 (5,6)	22 (14,6)	19 (8,3)	1,51 (0,89–2,57)		1,44 (0,71–2,93)		1,62 (0,72–3,63)	
C	0,719	0,754	0,747	0,764	0,672	0,740	1,20 (0,97–1,47)	0,09/ 0,21	1,10 (0,84–1,43)	0,51/ 0,77	1,39 (1,01–1,91)	0,04 / 0,14
T	0,281	0,246	0,253	0,236	0,328	0,260						

1 – относительный риск и 95% доверительный интервал с коррективкой по полу и возрасту

2 – уровень значимости

3 – частота ложноположительных результатов (FDR, URL: <https://www.sdmproject.com/utilities/?show=FDR>)

4 – относительный риск и 95% доверительный интервал с коррективкой по возрасту

Таблица 1 также демонстрирует, что среди женщин выявлена ассоциация аллеля rs1799964-С гена *TNF* ($P=0,002$, $Q=0,01$) с пониженным риском развития ХПРС, аллеля rs1800925-Т гена *IL13* ($P=0,04$, $Q=0,14$) – с повышенным риском развития ХПРС. У женщин обнаружена ассоциация генотипа rs1799964-С/С гена *TNF* ($P=0,003$, $Q=0,02$) с пониженным риском развития ХПРС (таблица 1).

Гаплотипы гена *IL6* в нашем исследовании ассоциаций с предрасположенностью к развитию ХПРС не продемонстрировали. Полиморфные варианты rs1800795 и rs1800796 гена *IL6* показали сильное неравновесие по сцеплению ($P<0,0001$). Репликационный анализ ассоциаций SNPs генов цитокинов с носовыми полипами и другими клинически значимыми фенотипами с помощью интернет-портала «GeneAtlas» (URL: <http://geneatlas.roslin.ed.ac.uk/>) в независимой популяции продемонстрировал ассоциации аллеля rs1799964-Т гена *TNF* ($P=0,004$) с повышенным риском развития полипов носа. В то же время у носителей аллелей rs1929992-С гена *IL33* ($P=1,49\times 10^{-4}$) и rs3024496-G гена *IL10* ($P=0,002$) реже выявлялись полипы в носу и придаточных пазухах носа.

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов цитокинов с возрастом дебюта и клиническими проявлениями ХПРС, объективными изменениями ЛОР-органов. Обнаружена ассоциация полиморфного варианта rs1800796 гена *IL6* ($OR=0,48$; 95% CI 0,26–0,90; $P=0,02$; $Q=0,15$) с ранней манифестацией ХПРС (младше 40 лет) независимо от пола и возраста больных. У мужчин с ранним дебютом ХПРС также был ассоциирован полиморфный вариант rs1800796 гена *IL6* ($OR=0,41$; 95% CI 0,20–0,86; $P=0,02$; $Q=0,14$). У женщин статистически значимых ассоциаций SNPs генов цитокинов с возрастом дебюта ХПРС нами не выявлено ($P>0,05$). Как видно на рисунке 1, у жителей Центральной России выявлена ассоциация rs3024496 гена *IL10* с жалобами больных ХПРС на боли в области глаз, лба, зубов ($OR=0,40$, 95% CI 0,21–0,78, $P=0,021$) и ночное апноэ ($OR=0,32$, 95% CI 0,13–0,78, $P=0,0096$). Обнаружена ассоциация rs1800925 гена *IL13* ($OR=0,32$, 95% CI 0,12–0,88, $P=0,048$) с кашлем у пациентов с ХПРС. SNP rs1800796 гена *IL6* ($OR=0,54$, 95% CI 0,30–0,96, $P=0,043$) был ассоциирован с появлением жалобы на снижение концентрации внимания.

Среди мужчин с ХПРС выявлена ассоциация rs1143627 гена *IL1B* с наличием болей в области глаз, лба, зубов ($OR=2,52$, 95% CI 1,30–4,88, $P=0,008$), головной боли ($OR=1,97$, 95% CI 1,15–3,38, $P=0,04$) и храпа ($OR=0,42$, 95% CI 0,25–0,72, $P=0,006$). Обнаружена ассоциация rs3024496 гена *IL10* с пониженным риском развития болей в области глаз, лба, зубов ($OR=0,31$, 95% CI 0,11–0,82, $P=0,04$) среди больных мужчин.

У женщин нами выявлена ассоциация rs3024496 гена *IL10* с риском появления запаха изо рта ($OR=0,17$, 95% CI 0,03–0,81, $P=0,03$), храпа ($OR=0,36$, 95% CI 0,14–0,95, $P=0,03$), ночного апноэ ($OR=0,19$, 95% CI 0,04–0,95, $P=0,02$) и слизисто-гнойного отделяемого из носа ($OR=2,73$, 95% CI 1,12–6,63, $P=0,03$). SNP rs1143627 гена *IL1B* у женщин был ассоциирован с жалобами на снижение слуха ($OR=6,49$, 95% CI 1,91–22,06, $P=0,007$) и заложенность в ушах ($OR=5,82$, 95% CI 1,64–20,59, $P=0,01$). С чувством давления за глазами у женщин был ассоциирован rs1929992 гена *IL33* ($OR=5,37$, 95% CI 1,59–18,14, $P=0,02$), с возникновением отделяемого в носоглотку – rs1800796 гена *IL6* ($OR=4,71$, 95% CI 1,03–21,44, $P=0,04$) (рисунок 1).

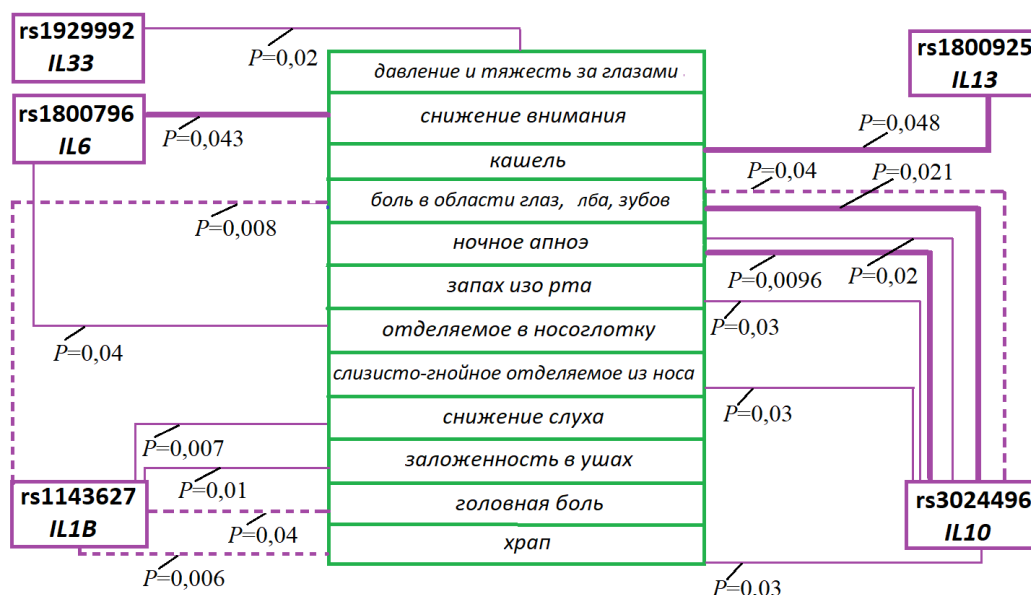


Рисунок 1 – Ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с симптоматикой ХПРС (сводные данные). Толстой линией обозначены ассоциации в общей выборке, тонкой – у женщин, пунктирной – у мужчин

Установлено, что больные ХПРС с гиперемией слизистой носа чаще являются носителями генотипов A/G-G/G rs1143627 гена *IL1B* ($P=0,006$; $Q=0,04$). Выявлено, что у пациентов с измененными носовыми раковинами чаще выявлялись генотипы T/C-C/C rs1929992 гена *IL33* ($P=0,006$; $Q=0,04$). Пониженный риск образования казеозного содержимого в лакунах небных миндалин у пациентов с ХПРС был ассоциирован с носительством генотипов T/C rs1929992 гена *IL33* ($P=0,04$; $Q=0,12$), A/G rs3024496 гена *IL10* ($P=0,05$, $Q=0,12$) и T/C rs1799964 гена *TNF* ($P=0,007$, $Q=0,05$) (рисунок 2).

Связь полиморфных вариантов генов цитокинов с клинико-лабораторными данными и результатами инструментальных исследований. Обнаружено, что генотип rs1800925-C/T гена *IL13* (OR=−1,54, 95% CI −2,79–0,29, $P=0,02$; $Q=0,14$) обладает протективным эффектом в отношении изменения уровня СОЭ у больных с ХПРС. Ассоциаций SNPs генов цитокинов с другими лабораторными данными не выявлено. Выявлена ассоциация генотипов G/C-C/C rs1800796 гена *IL6* (OR=2,20; 95% CI 1,17–4,14; $P=0,02$; $Q=0,14$) с тотальным затемнением ППН на рентгенограмме.

Репликационный анализ ассоциаций SNPs генов цитокинов с клинически значимыми лабораторными показателями с помощью интернет-ресурса «Common metabolic disease knowledge portal» (URL: <https://hugeamp.org/>) показал, что с изменением уровня маркеров воспаления в крови ассоциированы вариантные аллели rs1143627-G гена *IL1B*, rs1800796-C и rs1800795-C гена *IL6*, rs1800925-T гена *IL13* и rs1799964-C гена *TNF*, а маркеров аллергии – rs1800796-C и rs1800795-C гена *IL6* и rs1929992-C гена *IL33*.

Больные ХПРС с аллергическими (отечными, «эозинофильными») полипами чаще оказывались носителями rs1800795 гена *IL6* ($P=0,004$; $Q=0,03$). У больных с носительством rs1143627 гена *IL1B* ($P=0,01$; $Q=0,02$), rs3024496 гена *IL10* ($P=0,04$; $Q=0,07$), rs1799964 гена *TNF* ($P=0,01$; $Q=0,02$) и rs1800795 гена *IL6* ($P=0,004$; $Q=0,03$) реже выявлялись железистые полипы. Расчеты проводились с поправкой на пол, возраст, а также наличие аллергических реакций и БА (рисунок 2).

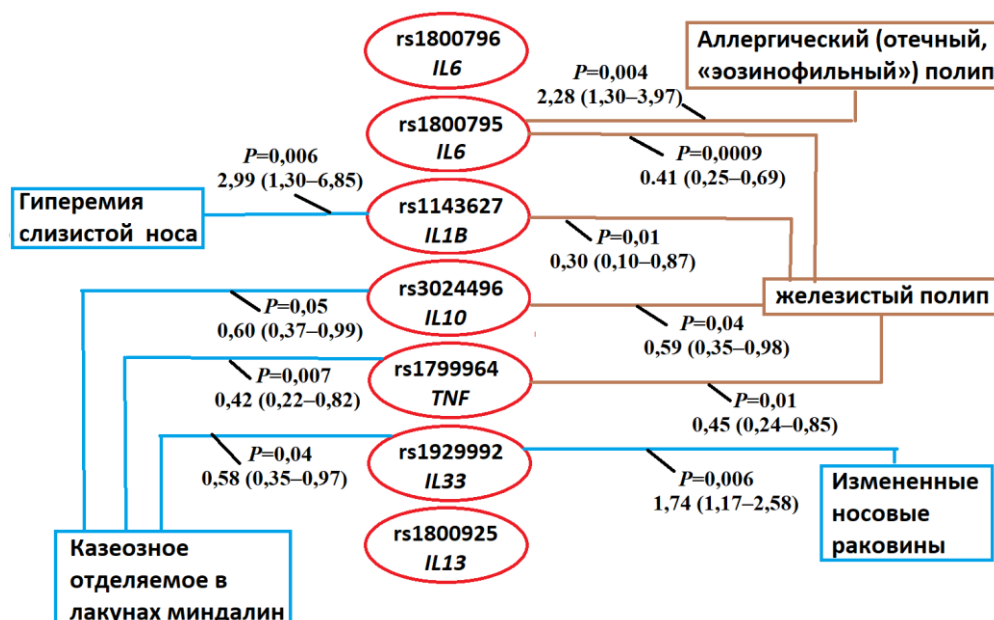


Рисунок 2 – Ассоциации SNPs генов цитокинов с объективными данными ЛОР-органов при ХПРС и различными гистологическими вариантами полипозной ткани (сводные данные)

Связь полиморфных вариантов генов цитокинов с развитием коморбидных заболеваний у больных ХПРС. Обнаружена ассоциация генотипов T/C-C/C SNP rs1929992 гена *IL33* с повышенным риском развития аллергии у пациентов с ХПРС ($P=0,003$; $Q=0,021$). В то же время больные ХПРС, не страдающие ХОБЛ, SNP rs1929992-C/C гена *IL33* ($P=0,02$; $Q=0,14$). Ассоциаций SNPs с риском развития других коморбидных заболеваний (БА, аллергического ринита) выявлено не было (таблица 2).

Таблица 2 – Ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с риском развития коморбидной патологии у пациентов с ХПРС (сводные данные)

Ген, SNP	Генотип	Наличие коморбидной патологии	Отсутствие коморбидной патологии	OR (95% CI) ¹	P ² /Q ³
		N (%)	N (%)		
Аллергия					
IL33 rs1929992	T/T	56 (37,6)	138 (53,3)	1,00	0,003/0,021
	T/C-C/C	93 (62,4)	121 (46,7)	1,88 (1,24–2,84)	
ХОБЛ					
IL33 rs1929992	T/T-T/C	105 (96,3)	267 (89,3)	1,00	0,02/0,14
	C/C	4 (3,7)	32 (10,7)	0,31 (0,11–0,91)	

1 – относительный риск и 95% доверительный интервал с корректировкой по полу и возрасту

2 – уровень значимости

3 – частота ложноположительных результатов (FDR, URL: <https://www.sdmproject.com/utilities/?show=FDR>)

Репликационный анализ ассоциаций SNPs генов цитокинов с клинически значимыми фенотипами в независимой популяции с помощью интернет-порталов «Common metabolic disease knowledge portal» (URL: <https://hugeamp.org/>) и «Lung disease knowledge portal» (URL: <https://lung.hugeamp.org/>) показал, что rs1929992 гена *IL33*, rs3024496 гена *IL10* и rs1800925 *IL13* в независимой популяции ассоциированы с аллергическим ринитом, БА и ХОБЛ.

Оценка совместного влияния факторов среды и полиморфных вариантов генов цитокинов на риск развития хронического полипозного риносинусита. Выявлена ассоциация полиморфного варианта rs1800795 гена *IL6* с пониженным риском развития ХПРС у мужчин без частых ОРВИ ($P=0,007$; $Q=0,04$), изменений мест пребывания перед началом заболевания ($P=0,004$; $Q=0,03$), пониженной или повышенной влажности воздуха ($P=0,03$; $Q=0,13$) и переохлаждений или перегреваний на рабочем месте ($P=0,002$; $Q=0,007$). Среди здоровых мужчин без данных факторов риска наблюдалась повышенная частота генотипа С/С. У некурящих мужчин с низким риском развития ХПРС был ассоциирован rs1929992 гена *IL33* ($P=0,02$; $Q=0,07$). Среди некурящих здоровых мужчин наблюдалась повышенная частота генотипа С/С. В то же время обнаружена ассоциация полиморфного варианта rs1799964 гена *TNF* ($P=0,02$; $Q=0,07$) с низким риском развития ХПРС среди мужчин без переохлаждений или перегреваний на рабочем месте. У мужчин с отсутствием данного фактора среды наблюдалась повышенная частота генотипов Т/С-С/С среди здоровых по сравнению с больными.

Нами выявлена ассоциация полиморфного варианта rs1799964 гена *TNF* с низким риском развития ХПРС у некурящих женщин ($P=0,003$; $Q=0,02$), женщин без частых ОРВИ ($P=0,008$; $Q=0,06$), смены мест пребывания перед началом заболевания ($P=0,02$; $Q=0,11$), повышенной или пониженной влажности воздуха на рабочем месте ($P=0,007$; $Q=0,05$) и частого контакта с бытовой химией ($P=0,02$; $Q=0,12$). Среди исследуемых без этих факторов риска наблюдалось повышение частоты генотипа С/С у здоровых женщин по сравнению с больными. Полученные нами данные демонстрируют половой диморфизм в отношении ассоциаций SNPs с вероятностью формирования ХПРС с учетом средовых факторов риска (рисунок 3).



Рисунок 3 – Ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с риском развития хронического полипозного риносинусита с учетом средовых факторов риска (сводные данные)

На следующем этапе нами была проведена оценка дозозависимого эффекта курения в соответствии с рассчитанным на основе анкетных данных количества пачек сигарет в год. Установлен дозозависимый эффект только для полиморфного варианта rs1800795 гена *IL6* ($P=0,01$, $Q=0,07$, $OR=3,74$, 95% CI 1,32–10,60), который ассоциировался с повышенным риском развития ХПРС у курящих более 182,5 пачек сигарет в год.

Нами было выявлено, что чаще всего усиление симптоматики у больных ХПРС не зависит от времени года (65%), в то время как в летом ухудшение симптомов ХПРС беспокоило пациентов реже всего (3%). Установлено, что с риском развития «сезонспецифического» ХПРС (ХПРС, симптомы которого проявляются наиболее ярко в определенное время года – только весной, летом, осенью или зимой) ассоциированы полиморфные варианты rs1799964 гена *TNF* ($P=0,03$, $Q=0,11$) и rs1800925 гена *IL13* ($P=0,005$; $Q=0,04$). У больных с «сезонспецифическим» ХПРС чаще наблюдались генотипы rs1799964-C/C гена *TNF* и rs1800925-C/T гена *IL13*.

Моделирование межгенных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с ХПРС. С целью моделирования ген-генных и генно-средовых взаимодействий методом Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) в модификации mbmdr нами использовались полиморфные варианты генов цитокинов и средовые факторы. Проведен анализ двухуровневых, трехуровневых и четырехуровневых ген-генных ($G \times G$) и моделей ген-среда ($G \times E$), при этом оценка уровня значимости осуществлялась на основании пермутационного теста (P_{perm}). Анализ $G \times G$ и $G \times E$ моделей позволил выявить 2843 статистически значимых (115 двухуровневых, 578 трехуровневых, 2150 четырехуровневых) модели.

Было установлено, что вклад факторов риска, ассоциированных с предрасположенностью к ХПРС, в двухуровневых моделях составил 62,1%, в трехуровневых 70,3% и в четырехуровневых 64,9%. В двухуровневых mdmdr-моделях среди средовых факторов наибольшую вовлеченность продемонстрировали частый контакт с бытовой химией (44,4%) и повышенная или пониженная влажность воздуха на рабочем месте (16,7%). Трехуровневые модели также продемонстрировали наибольшую вовлеченность бытовой химии (39,2%), пониженной или повышенной влажности воздуха на рабочем месте (11,4%). В четырехуровневых моделях наибольшую роль в развитие предрасположенности к ХПРС играет контакт с бытовой химией (36,7%).

В то же время двухуровневые модели продемонстрировали наибольшую вовлеченность SNPs rs1800795 (10,34%) и rs1800796 (6,9%) гена *IL6*, rs1799964 гена *TNF* (6,9%), rs1800925 гена *IL13* (5,17%), трехуровневые – rs1800795 гена *IL6* (8,67%). Четырехуровневые mdmdr-модели также показали существенный вклад rs1800795 гена *IL6* в развитие предрасположенности к ХПРС – 8,68%. Наилучшие mdmdr-модели формировались за счет взаимодействий между rs1799964 гена *TNF*, rs1800796 и rs1800795 гена *IL6* (таблица 3).

Для выявления конкретных генотипов, ассоциированных с ХПРС, нами была выполнена оценка ассоциаций парных комбинаций полиморфных вариантов генов rs1800796 и rs1800795 (*IL6*), rs1929992 (*IL33*), rs1143627 (*IL1B*), rs3024496 (*IL10*), rs1799964 (*TNF*), rs1800925 (*IL13*) с предрасположенностью к ХПРС. Было выявлено, что риск развития ХПРС повышен при носительстве диплотипов rs1929992-TT *IL33* \times rs1800795-GC *IL6* ($OR=1,60$, 95% CI 1,17–2,19, $P=0,003$, $Q=0,14$) и rs1929992-TT *IL33* \times rs1799964-TT *TNF* ($OR=1,59$, 95% CI 1,21–2,10, $P=0,001$, $Q=0,09$).

Таблица 3 – Наилучшие G×G модели, ассоциированные с предрасположенностью к ХПРС

Модель	NH ¹	β -H ²	WH ³	NL ⁴	β -L ⁵	WL ⁶	P_{perm} ⁷
Двухуровневые модели							
<i>TNF</i> rs1799964 × <i>IL6</i> rs1800795	1	0,131	15,01	1	-0,317	3,68	0,002
<i>IL6</i> rs1800795 × <i>IL6</i> rs1800796	2	0,107	11,43	1	-0,091	5,44	0,004
<i>IL13</i> rs1800925 × <i>IL6</i> rs1800796	2	0,111	10,62	2	-0,117	10,94	0,01
<i>TNF</i> rs1799964 × <i>IL33</i> rs1929992	1	0,115	11,06	0	NA	NA	0,01
<i>IL6</i> rs1800795 × <i>IL10</i> rs3024496	2	0,115	11,55	0	NA	NA	0,02
<i>IL13</i> rs1800925 × <i>TNF</i> rs1799964	1	0,204	9,65	0	NA	NA	0,03
<i>IL33</i> rs1929992 × <i>IL6</i> rs1800796	2	0,092	8,16	2	-0,064	3,89	0,04
Трехуровневые модели							
<i>TNF</i> rs1799964 × <i>IL6</i> rs1800795 × <i>IL6</i> rs1800796	2	0,134	15,52	1	-0,427	2,98	0,006
<i>TNF</i> rs1799964 × <i>IL33</i> rs1929992 × <i>IL6</i> rs1800796	2	0,128	13,50	1	-0,427	2,98	0,02
<i>IL13</i> rs1800925 × <i>TNF</i> rs1799964 × <i>IL6</i> rs1800795	2	0,160	17,06	2	-0,133	5,11	0,02
<i>TNF</i> rs1799964 × <i>IL6</i> rs1800795 × <i>IL33</i> rs1929992	2	0,148	17,94	1	-0,123	3,24	0,03
<i>IL13</i> rs1800925 × <i>TNF</i> rs1799964 × <i>IL10</i> rs3024496	3	0,178	15,09	2	-0,162	5,59	0,03
Четырехуровневые модели							
<i>IL13</i> rs1800925 × <i>IL10</i> rs3024496 × <i>IL1B</i> rs1143627 × <i>IL6</i> rs1800796	7	0,282	25,81	3	-0,220	10,34	0,03
<i>IL13</i> rs1800925 × <i>IL6</i> rs1800795 × <i>IL10</i> rs3024496 × <i>IL6</i> rs1800796	6	0,240	20,64	2	-0,197	9,79	0,04
<p>1 – число взаимодействующих генотипов и факторов высокого риска</p> <p>2 – коэффициент регрессии (взаимодействия высокого риска, обнаруженные во время 2 этапа <i>mbmdr</i>-анализа)</p> <p>3 – тестирование Вальда (взаимодействия высокого риска)</p> <p>4 – число взаимодействующих генотипов и факторов низкого риска</p> <p>5 – коэффициент регрессии (взаимодействия низкого риска, обнаруженные во время 2 этапа <i>mbmdr</i>-анализа)</p> <p>6 – тестирование Вальда (взаимодействия низкого риска)</p> <p>7 – уровни значимости <i>mbmdr</i>-моделей, рассчитанные с помощью пермутационного теста (с корректировкой по полу и возрасту)</p>							

На рисунке 4 показаны значения соотносительного вклада SNPs генов цитокинов и факторов риска в полигенную предрасположенность к ХПРС, рассчитанное на основе числа mdr-моделей.

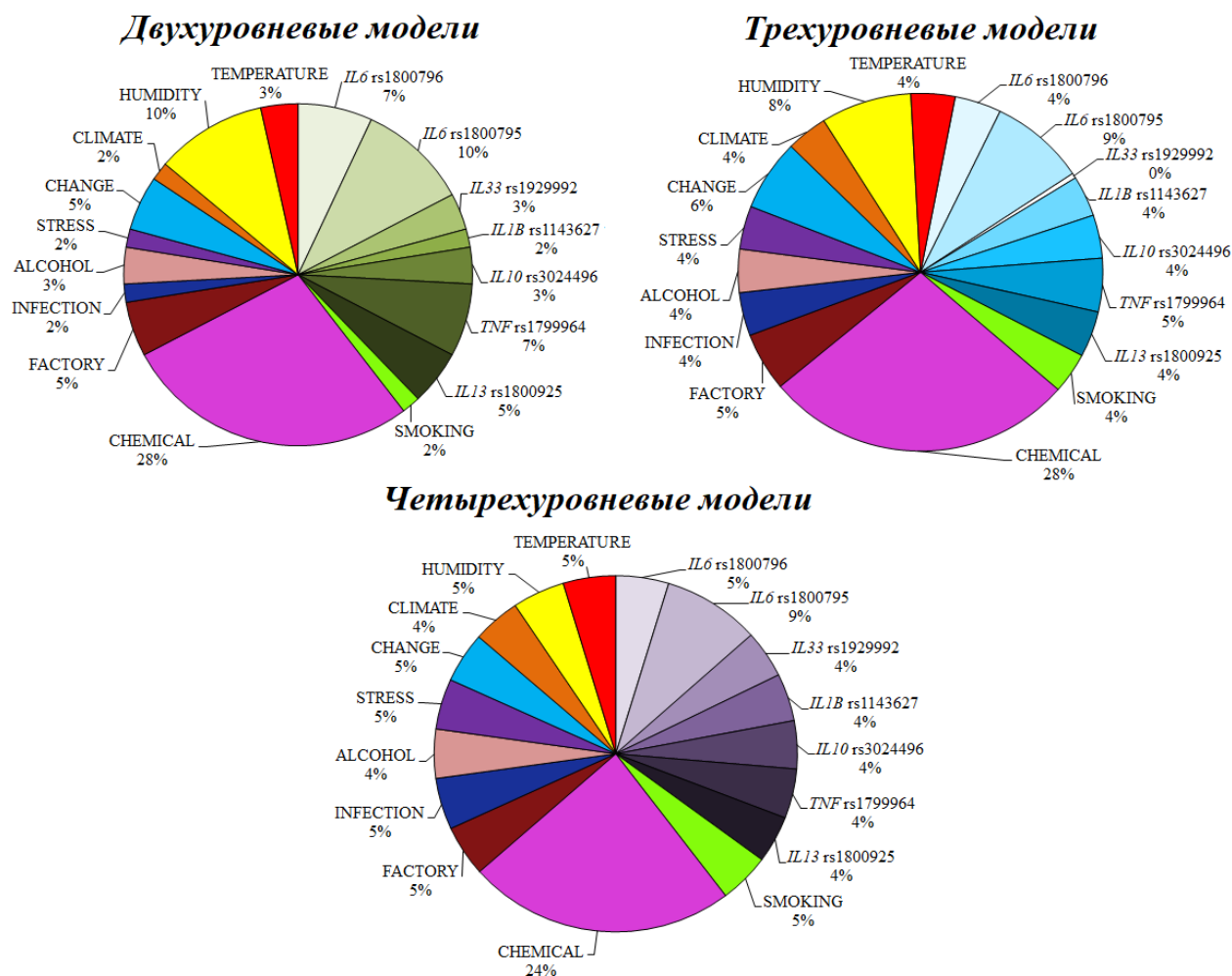


Рисунок 4 – Распределение вклада SNPs генов цитокинов и факторов риска в полигенную предрасположенность к ХПРС, где: SMOKING – курение, CHEMICAL – частый контакт с бытовой химией, FACTORY – проживание рядом с промышленными предприятиями, HUMIDITY – повышенная/пониженная влажность воздуха на рабочем месте, TEMPERATURE – переохлаждения/перегревания на рабочем месте, CHANGE – смена мест пребывания перед началом заболевания, CLIMATE – смена климата перед началом заболевания, ALCOHOL – употребление алкоголя, STRESS – частые стрессы, INFECTION – частые ОРВИ

Функциональное аннотирование полиморфных вариантов генов цитокинов. Использование различных геномно-транскриптомных данных порталов GTEx и eQTLGen позволило установить, что полиморфные варианты генов цитокинов представляют статистически значимые eQTL, вовлеченные в регуляцию экспрессии генов, многие из которых имеют значение при формировании иммунопатологических процессов при ХПРС. В частности, статистически значимые ($P < 0,05$) *cis*-eQTLs выявлены для всех исследуемых полиморфных вариантов генов цитокинов, в то время как *trans*-eQTLs обнаружены для SNP rs1799964 гена *TNF*. Установлено, что SNPs генов цитокинов локализованы в области модификаций гистонов, влияющих на экспрессию генов в клетках крови, вовлеченных в воспалительные процессы при

ХПРС. Установлено, что полиморфные варианты rs1800925 гена *IL13* (35), rs1800795 гена *IL6* (27) и rs1929992 гена *IL33* (21) находятся в неравновесии по сцеплению с многочисленными регуляторными SNPs (в скобках указано число SNPs в неравновесии по сцеплению). Выявлены ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с участками гиперметилирования ДНК в области CpG-островков в иммунокомпетентных клетках крови. При использовании биоинформатического ресурса atSNP было установлено, что SNPs генов цитокинов, ассоциированных с развитием ХПРС и его клиническими проявлениями формируют аллель-специфичные участки связывания для транскрипционных факторов, способных модулировать экспрессию генов. Таким образом, нами было установлено, что изучаемые SNPs генов цитокинов обладают регуляторным потенциалом, являются значимыми eQTLs, обладают способностью связываться с факторами транскрипции, а также представляют собой мишени для эпигенетической регуляции экспрессии генов в крови.

Выводы

1. Полиморфные варианты генов цитокинов ассоциированы с развитием хронического полипозного риносинусита и выявленные ассоциации отличались у мужчин и женщин. Так, у мужчин полиморфные варианты rs1800796 ($P=0,02$) и rs1800795 ($P=0,0002$) гена *IL6* были ассоциированы с повышенным риском развития ХПРС, тогда как у женщин SNP rs1799964 гена *TNF* ($P=0,003$) и rs1800925 гена *IL13* ($P=0,04$) были связаны с повышенным и пониженным риском развития болезни, соответственно. Ассоциации полиморфных вариантов rs1799964 *TNF* ($P=0,004$) и rs1929992 *IL33* ($P=1,49 \times 10^{-4}$) с назальным полипозом были успешно реплицированы в независимой популяции биобанка Великобритании.

2. Полиморфные варианты генов цитокинов ассоциированы с возрастом дебюта и клиническими проявлениями хронического полипозного риносинусита. SNP rs1800796 гена *IL6* был ассоциирован с более ранней (до 40 лет) манифестацией ХПРС ($P=0,02$), со снижением концентрации внимания ($P=0,04$) и наличием отделяемого в носоглотке ($P=0,04$); SNP rs3024496 гена *IL10* – с возникновением болей в области глаз, лба и зубов ($P=0,02$), ночного апноэ ($P=0,009$), храпа ($P=0,006$), запаха изо рта ($P=0,03$) и наличием слизисто-гнойного отделяемого из носа ($P=0,03$); rs1800925 гена *IL13* – с возникновением кашля ($P=0,048$); rs1143627 гена *IL1B* – с наличием болей в области глаз, лба, зубов ($P=0,008$), головной боли ($P=0,04$), храпа ($P=0,006$), снижения слуха ($P=0,007$) и заложенности в ушах ($P=0,01$), rs1929992 гена *IL33* – с наличием у пациентов аллергии ($P=0,003$) и хронической обструктивной болезни легких ($P=0,02$).

3. Установлены статистически значимые ($P \leq 0,05$) ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с объективными изменениями ЛОР-органов по результатам клинического, лабораторно-инструментального обследования пациентов с хроническим полипозным риносинуситом: rs1143627 гена *IL1B*, rs3024496 гена *IL10*, rs1929992 гена *IL33* и rs1799964 гена *TNF* – с наличием гиперемии слизистой оболочки носовой полости, изменением носовых раковин, наличия казеозного содержимого в лакунах небных миндалин; rs1800925 гена *IL13* – со снижением СОЭ; rs1800796 гена *IL6* – с тотальным затемнением ППН на рентгенограмме; rs1800795 гена *IL6*, rs1799964 гена *TNF*, rs1143627 гена *IL1B* и rs3024496 гена *IL10* – с различными гистологическими вариантами полипозной ткани (аллергический и железистый полипы);

4. Комплексная оценка средовых факторов позволила выявить, что курение, частый контакт с бытовой химией, проживание рядом с промышленными предприятиями, смена мест пребывания и климата перед началом заболевания, частые ОРВИ и изменения влажности воздуха и температуры на рабочем месте статистически значимо ($P \leq 1,4 \times 10^{-4}$) ассоциированы с повышенным риском развития хронического полипозного риносинусита.

5. Установлены потенцирующие влияния средовых факторов на риск развития хронического полипозного риносинусита в зависимости от полиморфных вариантов генов цитокинов: курения с rs1800795 гена *IL6* и rs1929992 *IL33* ($P \leq 0,02$), проживания вблизи промышленных предприятий с rs1799964 *TNF* ($P=0,01$), частых ОРВИ в анамнезе с rs1800795 *IL6* ($P=0,009$), смены мест пребывания перед началом заболевания с rs1929992 *IL33* ($P=0,01$) и rs1800795 *IL6* ($P=0,005$), изменений влажности воздуха на рабочем месте с rs1929992 *IL33* ($P=0,03$), переохлаждения/перегревания на рабочем месте с rs1800795 *IL6* ($P=0,008$) и rs1799964 *TNF* ($P=0,01$).

6. Установлены межгенные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с развитием хронического полипозного риносинусита. Наибольший вклад в структуру межгенных и генно-средовых взаимодействий вносили полиморфные варианты rs1800796 и rs1800795 гена *IL6*, rs1799964 гена *TNF*, rs1800925 гена *IL13*, а также средовые факторы, такие как, частый контакт с бытовой химией, повышенная/пониженная влажность воздуха на рабочем месте, проживание вблизи промышленных предприятий и смена места пребывания перед началом заболевания. Диплотипы rs1929992-TT *IL33* \times rs1800795-GC *IL6* ($P=0,003$), rs1929992-TT *IL33* \times rs1799964-TT *TNF* ($P=0,001$) и rs1800795-GG *IL6* \times rs1799964-CC *TNF* ($P=0,0001$) были в наибольшей степени ассоциированы с предрасположенностью к болезни.

7. Полиморфные варианты генов цитокинов, ассоциированные с развитием и клиническими особенностями хронического полипозного риносинусита, характеризуются значимым регуляторным потенциалом, коррелируют с изменениями в экспрессии в крови различных генов, расположенных в пределах общего хромосомного сегмента, находятся в неравновесии по сцеплению с регулярными SNPs, являются объектами для эпигенетического контроля генной экспрессии в клетках крови - лейкоцитах и лимфоцитах, а также формируют аллель-специфичные участки связывания для транскрипционных факторов.

Практические рекомендации

1. Для установления генетической предрасположенности к развитию ХПРС рекомендуется проводить генотипирование SNPs rs1800925 гена *IL13* и rs1799964 гена *TNF* у женщин и rs1800796 и rs1800795 гена *IL6* – у мужчин.
2. С целью выявления лиц с высоким риском развития ХПРС рекомендовано проведение генетического тестирования rs1800795 гена *IL6* у курильщиков, у лиц с частыми ОРВИ и переохлаждениями или перегреваниями на рабочем месте, у лиц со сменой мест пребывания рекомендовано генотипирование rs1929992 гена *IL33*.
3. Для прогнозирования развития ХПРС у лиц, часто контактирующих с бытовой химией, целесообразно проводить генетический анализ полиморфных вариантов генов rs1800795 и rs1800796 гена *IL6*, rs1799964 гена *TNF*, rs1800925 гена *IL13*, rs1143627 гена *IL1B* и rs1929992 гена *IL33*.
4. У лиц с повышенной или пониженной влажностью на рабочем месте рекомендовано выполнение генетического тестирования SNPs генов цитокинов rs1800796 гена *IL6* и rs1800925 гена *IL13*, а у лиц, проживающих вблизи промышленных предприятий – rs1800925 гена *IL13*, rs1929992 гена *IL33*, rs1800795 и rs1800796 гена *IL6*, а также rs1143627 гена *IL1B*.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Генетические аспекты хронического риносинусита / **А. С. Левченко**, О. Ю. Мезенцева, В. С. Пискунов [и др.] // Генетика. – 2018. – Т. 54, № 8. – С. 904-914. (**Web of Science, Scopus**) – 0,63 п.л. (личный вклад автора – 0,34 п.л.)
2. Взаимосвязь полиморфизма генов *IL1B* и *IL6* с эозинофилией крови и гистологической картиной полипов у пациентов с хроническим полипозным риносинуситом / **А. С. Левченко**, О. Ю. Мезенцева, В. С. Пискунов, А. В. Полоников // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2021. – Т.7, № 4. – С. 363-374. (**Scopus**) – 0,69 п.л. (личный вклад автора – 0,46 п.л.)
3. **Левченко, А. С.** Связь полиморфизма генов *IL4*, *IL6* и *TNF* с риском развития хронического полипозного риносинусита у людей, проживающих вблизи промышленных предприятий / **А. С. Левченко** // Естественные и технические науки. – 2021. – Т. 7, № 158. – С. 65-69. – 0,28 п.л.
4. **Левченко, А. С.** Частый контакт с бытовой химией как фактор ассоциации полиморфизма генов *IL4* и *TNF* с риском развития хронического полипозного риносинусита / **А. С. Левченко** // Естественные и технические науки. – 2021. – Т. 7, № 158. – С. 70-74. – 0,28 п.л.

Публикации в других изданиях:

5. **Левченко, А. С.** Корреляционная взаимосвязь между аллергическими реакциями, возрастом манифеста и рецидивами хронического полипозного риносинусита / **А. С. Левченко** // Санкт-Петербургские научные чтения – 2017: VII международный молодежный медицинский конгресс, Санкт-Петербург, 6-8 декабря 2017 г. : тезисы / Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. Павлова; отв. ред. Н.А. Гавришева. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 222. – 0,05 п.л.
6. **Левченко, А. С.** Анализ частоты встречаемости различных гистологических форм полипов полости носа при хроническом полипозном риносинусите / **А. С. Левченко**, О. Ю. Мезенцева, П. В. Примушко // Молодежная наука и современность : материалы 82-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием, посвященной 82-летию КГМУ, Курск, 19-20 апреля 2017 г. / Курский государственный медицинский университет ; ред. кол.: В.А. Лазаренко [и др.]. – Курск, 2017. – Ч. II. – С. 147. – 0,05 п.л. (личный вклад автора – 0,02 п.л.)
7. Некоторые факторы этиологии хронического полипозного риносинусита / **А. С. Левченко**, О. Ю. Мезенцева, В. С. Пискунов [и др.] // Современная медицина. – 2018. – № 3 (11). – С.119-121. – 0,17 п.л. (личный вклад автора – 0,13 п.л.)
8. **Левченко, А. С.** Эндогенные факторы среды как предикты носового полипоза / **А. С. Левченко**, О. Ю. Мезенцева, В. С. Пискунов // Актуальные вопросы оториноларингологии: материалы III Всероссийского конгресса национальной медицинской ассоциации оториноларингологов России, Нижний Новгород, 20-22 ноября 2019 г. / Санкт-Петербург: Полифорум Групп, 2019. – С. 95. – 0,05 п.л. (личный вклад автора – 0,02 п.л.)
9. **Левченко, А. С.** Зависимость между развитием хронического полипозного риносинусита, внешними условиями окружающей среды и вредными привычками пациентов / **А. С. Левченко**, О. Ю. Мезенцева, В. С. Пискунов // Материалы IX международного Петербургского форума оториноларингологов России, Санкт-Петербург, 5-7 октября 2020 г. / Санкт-Петербург: Полифорум Групп, 2020. – С. 227. – 0,05 п.л. (личный вклад автора – 0,02 п.л.)

10. **Левченко, А. С.** Сравнительный анализ некоторых генетических маркеров хронического полипозного и бактериального риносинусита / **А. С. Левченко, О. Ю. Мезенцева, В. С. Пискунов** // Современная медицина. – 2020. – № 3 (19). – С. 7-9. – 0,17 п.л. (личный вклад автора – 0,14 п.л.)

Список сокращений

ХРС – хронический риносинусит

ПН – полипоз носа

ХПРС – хронический полипозный риносинусит

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

РХВ – равновесие Харди-Вайнберга

ЦР – Центральная Россия

ППН – придаточные пазухи носа

ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция

БА – бронхиальная астма

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

GWAS – genome-wide association studies, полногеномные ассоциативные исследования

OR – относительный риск

95% CI – 95% доверительный интервал

SNP – single nucleotide polymorphism, однонуклеотидный полиморфизм

MAF – minor allele frequency, частота минорного аллеля

IL – interleukin, интерлейкин

TNF – tumor necrosis factor, фактор некроза опухоли

eQTL – expression quantitative trait loci, количественные изменения экспрессии генов