

## ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ ЧЕЛОВЕКА К ОФТАЛЬМОПАТОЛОГИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Владимир Иосифович КОНЕНКОВ<sup>1</sup>, Алла Владимировна ШЕВЧЕНКО<sup>1</sup>, Виктор Федорович ПРОКОФЬЕВ<sup>1</sup>, Вадим Валерьевич КЛИМОНТОВ<sup>1</sup>, Дмитрий Валерьевич ЧЕРНЫХ<sup>2</sup>, Валерий Вячеславович ЧЕРНЫХ<sup>2</sup>, Александр Николаевич ТРУНОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН  
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>2</sup> МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России, Новосибирский филиал  
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

Цель исследования – поиск высокоинформативных генетических критериев персонализированного прогноза при наличии самых ранних слабо выраженных клинических признаков развития патологии органов зрения. **Материал и методы.** Представлены результаты иммуногенетического обследования 403 человек, среди которых 102 пациента с возрастной макулодистрофией (ВМД) и 90 человек с диабетической ретинопатией (ДР), 211 пациентов аналогичного пола и возраста в качестве контрольных групп сравнения. В данных группах проведен анализ полиморфизма регуляторных регионов генов цитокинов *TNFA* (rs361525, rs1800629 и rs1800630), *IL1B* (rs1143627), *IL4* (rs2243250), *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800872), гена фактора роста эндотелия сосудов *VEGF* (rs3025039, rs699947), генов матриксных металлопротеиназ *MMP* (rs2438650, rs3025058, rs3918242). **Результаты и их обсуждение.** При сопоставлении частот встречаемости используемых комбинированных генетических признаков в сопоставимых группах с наличием или отсутствием ВМД выявляются две группы показателей: одна – с преимущественной частотой распространена среди пациентов с ВМД, другая – лишь среди лиц пожилого возраста с отсутствием ДР отмечается преобладание признаков заболевания. Напротив, среди пациентов с наличием ДР отмечается значительное преобладание признаков, позитивно ассоциированных с развитием патологии, над негативно ассоциированными показателями. Выявленные генетические признаки указывают на преимущественно воспалительный характер патологического процесса при ДР, в отличие от патогенеза ВМД, в котором преобладают дегенеративные процессы и фиброгенез. **Заключение.** Полученные нами результаты генетических исследований демонстрируют возможность персонализировать предрасположенность значительной части пациентов пожилого возраста к развитию заболеваний глаз микроангиопатического или дегенеративного генеза с целью проведения целенаправленных профилактических мероприятий.

**Ключевые слова:** возрастная макулярная дегенерация, диабетическая ретинопатия, гены цитокинов, ген фактора роста эндотелия сосудов, гены матриксных металлопротеиназ.

**Коненков В.И.** – д.м.н., проф., академик РАН, зав. лабораторией клинической иммуногенетики, научный руководитель, e-mail: vikonenkov@gmail.com, ORCID.org/0000-0001-7385-6270

**Шевченко А.В.** – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, e-mail: shalla64@mail.ru, ORCID.org/0000-0001-5898-950X

**Прокофьев В.Ф.** – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, e-mail: vf\_prok@mail.ru, ORCID.org/0000-0001-7290-1631

**Климонтов В.В.** – д.м.н., проф. РАН, зав. лабораторией эндокринологии, зам. руководителя филиала по научной работе, e-mail: klimontov@mail.ru, ORCID.org/0000-0002-5407-8722

**Черных Д.В.** – к.м.н., врач-офтальмолог, e-mail: nfmntk.dima@gmail.com, ORCID.org/0000-0002-3173-7748

**Черных В.В.** – д.м.н., проф., директор, e-mail: sci@mntk.nsk.ru, ORCID.org/0000-0002-7623-3359

**Трунов А.Н.** – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, e-mail: trunov1963@yandex.ru, ORCID.org/0000-0002-7592-8984

Возрастная макулярная дистрофия (ВМД) является третьей по распространенности среди причин потери зрения и инвалидизации пациентов, что, вероятно, можно связать с увеличением продолжительности жизни населения [16]. Семейные и близнецовые исследования показали наличие факта наследственной предрасположенности к развитию ВМД, а Международный консорциум по геномике (IAMDGC) обобщил данные полногеномных исследований в этой области и сообщил о 34 независимых локусах риска развития ВМД, что в совокупности объясняет около 50 % наследственных рисков его возникновения [10]. Среди наиболее сильно ассоциированных с ВМД определены локус фактора комплемента H (*CFH*) на хромосоме 1q32 и участок на хромосоме 10q26, содержащий два гена: *ARMS2* (age-related maculopathy susceptibility protein 2 – белок, ассоциированный с макулярной дегенерацией) и *HTRA1*, кодирующий сериновую протеазу семейства трипсинов [11]. Наименее изучен вопрос об ассоциированности ВМД с полиморфными вариантами участков генов таких регуляторных факторов ангиогенеза, ремоделирования соединительной ткани и воспаления, как цитокины, факторы роста и металлопротеиназы [6].

Изучение генетических основ развития диабетической ретинопатии (ДР) имеет длительную историю, начиная с семейных и близнецовых исследований, выявивших однотипное наследование в 68 и 95 % случаев при сахарном диабете 1 и 2 типа соответственно [13]. В ней периодически менялись акценты с преимущественного внимания к исследованию различных моделей наследования, изучению ассоциированности с кандидатными генами, проведению полногеномных исследований. Наибольшее внимание исследователей привлекли такие гены, как ген ангиотензин-1-превращающего фермента (*AGE*), ген рецептора ангиотензина II типа 1, ген ангиотензиногена, ген ингибитора активатора плазминогена-1, гены  $\alpha 2\beta 1$  интегрин, ген рецептора, активируемого пролифератором пероксисом  $\gamma$ , ген синтазы-3 оксида азота (*NOS3*), ген фактора роста сосудистого эндотелия (*VEGF*), ген альдозоредуктазы (*ALR2*), ген рецептора для AGE (*RAGE*), ген переносчика глюкозы-1, ген трансформирующего фактора роста бета (*TGF- $\beta$* ) и ряд других полиморфных генов [15].

Генетические факторы могут в совокупности объяснить от 25 до 50 % наследственной компоненты заболевания [17]. Однако как в первом, так и во втором случае развития офтальмопатологии практически исключено наличие всех этих по отдельности ассоциированных с заболеванием вариантов полиморфных генов в геноме одного пациента, что существенно снижает практиче-

скую прогностическую значимость выявления таких генотипов и ставит вопрос о поиске комбинированных генотипов, наличие которых у конкретного индивида обеспечивает у него высокую вероятность (желательно не менее 95 %) развития того или иного заболевания. Другими словами, необходимо продолжать поиск высокоинформативных критериев персонализированного прогноза при наличии самых ранних слабо выраженных клинических признаков развития патологии органов зрения.

С этой целью нами проведено исследование частоты встречаемости в группах пациентов с ВМД и ДР и в соответствующих контрольных репрезентативных группах комбинированных генетических признаков, включающих в себя варианты полиморфных участков генов цитокинов как факторов, белковые продукты которых принимают активное участие в процессах ангиогенеза, фиброгенеза и воспаления. Частотные характеристики наличия в геноме пациентов этих генетических комбинаций подвергались тщательному статистическому анализу с использованием специальных компьютерных программ для исключения слабодостоверных и ошибочных результатов.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Представлены результаты иммуногенетического обследования 403 человек, среди которых 102 пациента с возрастной макулодистрофией и 90 человек с диабетической ретинопатией, а также 211 пациентов аналогичного пола и возраста в качестве групп сравнения. В исследование включен 201 пациент с сахарным диабетом (СД) 2 типа (156 женщин и 45 мужчин), европеоидного происхождения, в возрасте 43–70 лет, считающие себя и своих родителей русскими. Критериями исключения являлись наличие клинических или лабораторных признаков СД 1 типа, признаки других специфических типов СД, аутоиммунные и опухолевые процессы любой локализации, острые и обострения хронических воспалительных заболеваний органов зрения, первичная открытоугольная глаукома, увеит, лечение локальными или системными ингибиторами ангиогенеза в течение трех месяцев перед исследованием. Пациенты разделены на две группы: без признаков диабетической ретинопатии (111 человек) и с диабетической ретинопатией (90 человек).

Диагноз ДР выставлялся специалистами Новосибирского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова на основании обследования, включавшего визометрию, периметрию, бинокулярную офтальмоскопию с использованием налобного офтальмоскопа Heine

Omega 200 («HEINE Optotechnik», Германия) и линзы 20 дптр, щелевой лампы Karl Zeiss SL 115 Classic («Zeiss AG», Германия) и линзы Ocular MaxField («Ocular Instruments», США) 78 дптр, двухмерное ультразвуковое сканирование на установке Tomey UD 1000 («Tomey Corporation», Япония).

Помимо этого, в исследование включены 202 пациента, также прошедших диагностическое обследование на базе Новосибирского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова. Они разделены на две группы: 102 пациента с наличием возрастной макулярной дегенерации и 100 человек аналогичного возраста с ее отсутствием, которые являлись группой сравнения в данном блоке исследований. Критерием включения в основную группу пациентов являлись наличие диагноза ВМД и возраст старше 60 и менее 70 лет, количество женщин составило 82, мужчин – 20, средний возраст –  $64,19 \pm 1,03$  года. Критерием включения в группу сравнения явилось отсутствие у пациентов диагноза ВМД, количество женщин в группе – 82, мужчин – 18, средний возраст –  $59,92 \pm 0,77$  года. Критерием исключения для обеих групп являлось наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, глаукомы, увеита различной этиологии, полной осложненной катаракты, отслойки сетчатки, рубцеобразования радужки. Также из исследования исключались пациенты с СД, аутоиммунными и опухолевыми процессами любой локализации. Диагноз ВМД выставлен на основании стандартного офтальмологического обследования, включающего визометрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, периметрию, оптическую когерентную томографию макулярной области.

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323 ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и одобрено комитетами по биомедицинской этике НИИ клинической и экспериментальной лимфологии и Новосибирского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова. У всех пациентов было получено информированное согласие на забор биологического материала, а также использование данных исследования в научных целях.

Исследовали полиморфизм регуляторных регионов генов цитокинов (*TNFA* –238 A/G (rs361525), –308 A/G (rs1800629) и –863 C/A (rs1800630), *IL1B* –31 C/T (rs1143627), *IL4* –590 C/T (rs2243250), *IL6* –174 C/G (rs1800795),

*IL10* –592 C/A (rs1800872), *IL10* –1082 A/G (rs1800872)), *VEGF* (*VEGF* +936 C/T (rs3025039), *VEGF* –2578 C/A (rs699947)), матриксных металлопротеиназ *MMP2* T/C (rs2438650), *MMP3* 5A/6A (rs3025058), *MMP9* C/T (rs3918242). Исследования полиморфизма осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием коммерческих тест-систем на основе интеркалирующего красителя SYBR GreenI («Литех», Россия) и методом TaqMan зондов («Синтол», Россия) на амплификаторе «ДТ-96» («ДНК-Технология», Россия) согласно инструкции фирм-производителей и как описано нами ранее [5, 7].

При статистическом анализе результатов генетических исследований рассчитывали частоту встречаемости аллелей, генотипов и их комбинаций, отношение шансов (OR) и его 95%-й доверительный интервал (95 % CI), а также величину диагностического коэффициента (DK) и специфичность генетических маркеров (Sp) [1, 2, 4]. Расчет величины OR и 95 % CI проводили по методу Вульфа – Холдейна, который допускает определять OR по таблице  $2 \times 2$  для случаев, когда хотя бы одна из ячеек таблицы имеет значение «ноль» [1, 14]. Достоверность различий частот распределения изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по двухстороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц [3]. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что при сопоставлении частот встречаемости используемых комбинированных генетических признаков в сопоставимых группах с наличием или отсутствием ВМД выявляются две группы таких показателей. Одна из этих групп с преимущественной частотой (уровень достоверности различий двухстороннего критерия Фишера  $p < 0,01$ ) распространена среди пациентов с ВМД, тогда как другая, и более выраженная по численности, группа признаков оппозитно распространена лишь среди лиц пожилого возраста с отсутствием клинических и инструментальных признаков заболевания. Обращает на себя внимание высокая специфичность выявления этих конституциональных признаков, которая колеблется в интервале от 97 до 99 % (табл. 1).

Кроме того, эти группы признаков значительно различаются по качественному составу самих генетических компонент. Так, если среди позитивно ассоциированных с развитием ВМД признаков генотип *TNFA* в полиморфной пози-

Таблица 1

Комбинированные генотипы, позитивно и негативно ассоциированные с развитием ВМД

Комбинация полиморфизмов	Генотип	ВМД, %	Контроль, %	OR	95 % CI	Sp	DK
<i>Предрасположенность к развитию ВМД (позитивная ассоциация)</i>							
<i>TNF-863:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	CC-TT-GC-CC	9,80	1,00	10,76	1,35–85,72	99,00	9,9
<i>TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	CC-GG-TT-GC-CC	9,80	1,00	10,76	1,35–85,72	99,00	9,9
<i>IL1B-31:IL10-1082:IL10-592</i>	TT-GG-CC	13,73	3,00	5,14	1,43–18,50	97,00	6,6
<i>TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL10-592</i>	CC-GG-GG-TT-CC	13,73	3,00	5,14	1,43–18,50	97,00	6,6
<i>TNF-863:IL1B-31:IL10-592</i>	CC-TT-CC	18,63	6,00	3,59	1,37–9,41	94,00	4,9
<i>Резистентность к развитию ВМД (негативная ассоциация)</i>							
<i>TNF-863:IL10-1082</i>	CA-AG	4,90	17,00	0,25	0,09–0,71	95,10	–5,4
<i>TNF-863:TNF-308:IL10-1082</i>	CA-GG-AG	3,92	16,00	0,21	0,07–0,67	96,08	–6,1
<i>TNF-863:TNF-238:IL10-1082</i>	CA-GG-AG	3,92	16,00	0,21	0,07–0,67	96,08	–6,1
<i>TNF-863:TNF-308:IL10-592</i>	CA-GG-CA	2,94	13,00	0,20	0,06–0,74	97,06	–6,5
<i>IL4-590:IL10-1082:IL10-592</i>	CC-AA-CA	2,94	13,00	0,20	0,06–0,74	97,06	–6,5
<i>TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-1082</i>	CA-GG-GG-AG	2,94	15,00	0,17	0,05–0,61	97,06	–7,1
<i>TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-592</i>	CA-GG-GG-CA	1,96	11,00	0,16	0,03–0,75	98,04	–7,5
<i>TNF-863:TNF-308:IL4-590:IL10-1082</i>	CA-GG-CC-AG	0,98	9,00	0,10	0,01–0,81	99,02	–9,6
<i>TNF-863:IL4-590:IL10-1082:IL10-592</i>	CC-CC-AA-CA	0,98	9,00	0,10	0,01–0,81	99,02	–9,6
<i>TNF-308:IL4-590:IL10-1082:IL10-592</i>	GG-CC-AA-CA	0,98	9,00	0,10	0,01–0,81	99,02	–9,6
<i>TNF-238:IL4-590:IL6-174:IL10-1082:IL10-592</i>	GG-CC-GC-AA-CA	0,98	9,00	0,10	0,01–0,81	99,02	–9,6
<i>TNF-863:TNF-308:IL10-1082:IL10-592</i>	CA-GG-AG-CC	0,98	10,00	0,09	0,01–0,71	99,02	–10,1
<i>IL4-590:IL6-174:IL10-1082:IL10-592</i>	CC-GC-AA-CA	0,98	10,00	0,09	0,01–0,71	99,02	–10,1
<i>TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-1082:IL10-592</i>	CA-GG-GG-AG-CC	0,98	10,00	0,09	0,01–0,71	99,02	–10,1
<i>TNF-863:IL10-1082:IL10-592</i>	CA-AG-CC	0,98	11,00	0,08	0,01–0,63	99,02	–10,5
<i>TNF-863:TNF-238:IL10-1082:IL10-592</i>	CA-GG-AG-CC	0,98	11,00	0,08	0,01–0,63	99,02	–10,5

Примечание. В таблице приведены показатели с уровнем статистической значимости различий  $p < 0,01$ .

ции –863 А/С представлен исключительно гомозиготным вариантом СС, то в группе негативно ассоциированных признаков этот генотип представлен гетерозиготным вариантом АС. Вместе с тем имеются данные о том, что редкий аллель А в этой позиции связан с низким уровнем экспрессии TNF- $\alpha$  и с низким уровнем его концентрации в сыворотке крови [18].

Сходная закономерность выявляется и при рассмотрении характера генотипа *IL10* в позиции –592 А/С. Среди пациентов с ВМД он также представлен исключительно гомозиготным вариантом СС, тогда как среди резистентных к развитию ВМД пожилых лиц – гетерозиготным вариантом АС.

Иная картина наблюдается при анализе результатов исследования частот распределения комбинированных генетических признаков, основанных на изучении полиморфизмов в регуляторных участках генов цитокинов, в репрезентативных группах пациентов с СД 2 типа с наличием или отсутствием клинических и ин-

струментальных признаков ДР (табл. 2); так, среди них отмечается значительное преобладание признаков, позитивно ассоциированных с развитием патологии органов зрения, над негативно ассоциированными признаками. С другой стороны, и в этом случае обращает на себя внимание высокий уровень специфичности отобранных в результате биоинформационного анализа признаков, который колеблется в интервале от 90 до 100 %. Однако в обеих сопоставляемых группах практически не встречается аллель А в генотипах *TNFA* в позиции –863 А/С, и этот генотип проявляет себя гомозиготным вариантом, ассоциированным с более высоким уровнем экспрессии генного продукта, что, вероятно, связано с преобладанием проангиогенных и провоспалительных компонент в патогенезе этого заболевания. Вместе с тем закономерности, выявленные при анализе групп с развитием ВМД, для генотипа *IL10* в позиции –592 С/А сохраняются. Преобладание гомозиготного варианта СС у пациентов с ДР сменяется наличием гетерозиготного вари-

Таблица 2

Комбинированные генотипы, позитивно и негативно ассоциированные с развитием ДР

Комбинация полиморфизмов	Генотип	ДР, %	Контроль, %	OR	95 % CI	Sp	DK
<i>Предрасположенность к развитию ДР (позитивная ассоциация)</i>							
IL1B-31:IL4-590:IL6-174:IL10-592	TC-CT-GG-CC	8,89	0,00	22,98	1,31–403,76	100,00	13,2
TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL6-174	GG-TC-CT-GG	7,78	0,00	20,03	1,13–355,67	100,00	12,7
TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	CC-GG-TC-GG-CC	7,78	0,00	20,03	1,13–355,67	100,00	12,7
TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL6-174:IL10-592	GG-TC-CT-GG-CC	7,78	0,00	20,03	1,13–355,67	100,00	12,7
IL1B-31:IL4-590:IL6-174	TC-CT-GG	11,11	0,90	13,75	1,73–109,59	99,10	10,9
TNF-863:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	CC-TC-GG-CC	11,11	0,90	13,75	1,73–109,59	99,10	10,9
TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	GG-TC-GG-CC	10,00	0,90	12,22	1,52–98,41	99,10	10,5
TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	CC-GG-TC-GG-CC	10,00	0,90	12,22	1,52–98,41	99,10	10,5
TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL6-174	GG-TC-CT-GG	8,89	0,90	10,73	1,32–87,50	99,10	9,9
TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	GG-GG-TC-GG-CC	8,89	0,90	10,73	1,32–87,50	99,10	9,9
TNF-863:IL1B-31:IL4-590:IL6-174	CC-TC-CT-GG	7,78	0,90	9,28	1,12–76,87	99,10	9,4
IL1B-31:IL6-174:IL10-592	TC-GG-CC	14,44	2,70	6,08	1,67–22,06	97,30	7,3
TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	GG-TC-GG-CC	13,33	2,70	5,54	1,51–20,29	97,30	6,9
IL1B-31:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	TC-CT-GG-CC	8,89	1,80	5,32	1,10–25,71	98,20	6,9
IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	TC-CT-GG	11,11	2,70	4,50	1,20–16,88	97,30	6,1
IL4-590:IL6-174:IL10-592	CT-GG-CC	13,33	3,60	4,12	1,28–13,24	96,40	5,7
TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	GG-TC-CT-GG	10,00	2,70	4,00	1,05–15,25	97,30	5,7
TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	GG-TC-CT-GG	10,00	2,70	4,00	1,05–15,25	97,30	5,7
TNF-308:IL4-590:IL6-174	GG-CT-GG	12,22	3,60	3,72	1,14–12,13	96,40	5,3
TNF-238:IL4-590:IL6-174:IL10-592	GG-CT-GG-CC	12,22	3,60	3,72	1,14–12,13	96,40	5,3
TNF-308:IL6-174:IL10-592	GG-GG-CC	21,11	8,11	3,03	1,30–7,09	91,89	4,2
IL4-590:IL6-174	CT-GG	16,67	6,31	2,97	1,15–7,65	93,69	4,2
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592	GG-GG-GG-CC	20,00	8,11	2,83	1,20–6,66	91,89	3,9
IL6-174:IL10-592	GG-CC	27,78	12,61	2,66	1,29–5,51	87,39	3,4
TNF-238:IL6-174:IL10-592	GG-GG-CC	26,67	12,61	2,52	1,21–5,23	87,39	3,3
TNF-863:IL6-174:IL10-592	CC-GG-CC	20,00	9,91	2,27	1,01–5,10	90,09	3,0
<i>Резистентность к развитию ДР (негативная ассоциация)</i>							
TNF-238:IL10-1082:IL10-592	GG-AG-CA	7,78	18,02	0,38	0,15–0,95	92,22	-3,6
TNF-863:IL4-590:IL6-174	CC-CT-GC	7,78	18,92	0,36	0,15–0,89	92,22	-3,9
TNF-863:TNF-308:IL4-590:IL6-174	CC-GG-CT-GC	6,67	17,12	0,35	0,13–0,91	93,33	-4,1
TNF-863:IL1B-31	CA-TT	4,44	13,51	0,30	0,10–0,93	95,56	-4,8
IL4-590:IL10-1082:IL10-592	CC-AG-CA	4,44	13,51	0,30	0,10–0,93	95,56	-4,8
TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-1082	GG-GG-TC-GC-AG	3,33	11,71	0,26	0,07–0,94	96,67	-5,5
TNF-308:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	GG-CC-AG-CA	2,22	9,91	0,21	0,04–0,96	97,78	-6,5
TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL6-174	CC-GG-TC-CT-GC	2,22	9,91	0,21	0,04–0,96	97,78	-6,5
TNF-238:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	GG-CC-AG-CA	2,22	11,71	0,17	0,04–0,78	97,78	-7,2

Примечание. Здесь и в табл. 3 приведены показатели с уровнем статистической значимости различий  $p < 0,05$ .

анта АС в оппозитной группе с отсутствием ДР, несмотря на длительное течение СД 2 типа. Аллель А в составе сложного комбинированного гаплотипа IL10 (1082-819-592) связана с более низким уровнем экспрессии и продукции цитокина IL-10 с противовоспалительной активностью [9].

Учитывая сходные моменты в агрегировании ряда комбинированных генетических признаков

в предрасположенности и резистентности пациентов к развитию ВМД и/или ДР, нами проведен сравнительный биоинформационный анализ характера распределения этих конституциональных признаков в группах пациентов с обоими типами офтальмопатологии, результаты которого представлены в табл. 3. Как следует из табличных данных, выявляется достаточно большое

Таблица 3

Комбинированные генотипы, альтернативно ассоциированные с развитием ДР и ВМД

Комбинация полиморфизмов	Генотип	ДР, %	ВМД, %	OR	95 % CI	Sp	DK
IL1B-31:IL6-174:IL10-1082	TC-GC-GG	8,89	0,98	9,85	1,21–80,40	99,02	9,6
TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL10-1082	GG-TC-GC-GG	8,89	0,98	9,85	1,21–80,40	99,02	9,6
TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-1082	GG-TC-GC-GG	8,89	0,98	9,85	1,21–80,40	99,02	9,6
TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-1082	GG-GG-TC-GC-GG	8,89	0,98	9,85	1,21–80,40	99,02	9,6
TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	CC-GG-TC-GC-CC	7,78	0,98	8,52	1,03–70,64	99,02	9,0
IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	TC-CT-GG	11,11	1,96	6,25	1,33–29,34	98,04	7,5
TNF-308:IL4-590:IL10-1082	GG-CT-GG	14,44	2,94	5,57	1,53–20,24	97,06	6,9
TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	GG-TC-CT-GG	10,00	1,96	5,56	1,17–26,44	98,04	7,1
TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	GG-TC-CT-GG	10,00	1,96	5,56	1,17–26,44	98,04	7,1
TNF-308:TNF-238:IL4-590:IL10-1082	GG-GG-CT-GG	13,33	2,94	5,08	1,38–18,62	97,06	6,6
TNF-863:IL1B-31:IL10-1082	CA-TC-GG	8,89	1,96	4,88	1,01–23,61	98,04	6,6
TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL10-1082	CA-GG-TC-GG	8,89	1,96	4,88	1,01–23,61	98,04	6,6
TNF-863:IL4-590:IL6-174:IL10-592	CC-CT-GG-CC	8,89	1,96	4,88	1,01–23,61	98,04	6,6
IL1B-31:IL4-590:IL6-174:IL10-592	TC-CT-GG-CC	8,89	1,96	4,88	1,01–23,61	98,04	6,6
IL1B-31:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	TC-CT-GG-CC	8,89	1,96	4,88	1,01–23,61	98,04	6,6
TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	GG-GG-TC-CT-GG	8,89	1,96	4,88	1,01–23,61	98,04	6,6
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592	GG-GC-AG-CC	12,22	2,94	4,59	1,24–17,04	97,06	6,2
IL1B-31:IL4-590:IL6-174	TC-CT-GG	11,11	2,94	4,13	1,10–15,49	97,06	5,8
TNF-863:IL1B-31:IL4-590:IL10-592	CC-TC-CT-CC	11,11	2,94	4,13	1,10–15,49	97,06	5,8
TNF-863:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	CC-TC-GC-CC	11,11	2,94	4,13	1,10–15,49	97,06	5,8
TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	GG-GG-TC-GC-CC	11,11	2,94	4,13	1,10–15,49	97,06	5,8
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-1082:IL10-592	GG-GG-GC-AG-CC	11,11	2,94	4,13	1,10–15,49	97,06	5,8
IL4-590:IL6-174:IL10-592	CT-GG-CC	13,33	3,92	3,77	1,17–12,14	96,08	5,3
TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592	GG-TC-GC-CC	14,44	4,90	3,28	1,12–9,59	95,10	4,7
IL6-174:IL10-1082:IL10-592	GC-AG-CC	16,67	5,88	3,20	1,18–8,64	94,12	4,5
TNF-863:IL1B-31:IL10-1082:IL10-592	CC-TC-AG-CC	13,33	4,90	2,98	1,01–8,83	95,10	4,3
IL1B-31:IL6-174:IL10-592	TC-GC-CC	15,56	5,88	2,95	1,08–8,03	94,12	4,2
IL1B-31:IL10-1082:IL10-592	TC-AG-CC	15,56	5,88	2,95	1,08–8,03	94,12	4,2
TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL10-592	GG-TC-CT-CC	15,56	5,88	2,95	1,08–8,03	94,12	4,2
TNF-238:IL6-174:IL10-1082:IL10-592	GG-GC-AG-CC	15,56	5,88	2,95	1,08–8,03	94,12	4,2
IL1B-31:IL4-590:IL10-592	TC-CT-CC	17,78	6,86	2,93	1,15–7,50	93,14	4,1
TNF-308:IL1B-31:IL10-1082	GG-TC-GG	16,67	6,86	2,71	1,05–7,00	93,14	3,9
TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL10-592	CC-GG-TC-CC	16,67	6,86	2,71	1,05–7,00	93,14	3,9
TNF-238:IL10-1082:IL10-592	GG-AG-CC	31,11	15,69	2,43	1,21–4,87	84,31	3,0
TNF-308:IL10-1082:IL10-592	GG-AG-CC	25,56	12,75	2,35	1,11–4,98	87,25	3,0
IL10-1082:IL10-592	AG-CC	33,33	17,65	2,33	1,19–4,57	82,35	2,8
TNF-308:IL1B-31:IL10-592	GG-TC-CC	26,67	13,73	2,29	1,10–4,75	86,27	2,9
IL1B-31:IL4-590	TC-CT	23,33	11,76	2,28	1,05–4,96	88,24	3,0
TNF-308:TNF-238:IL10-1082:IL10-592	GG-GG-AG-CC	23,33	11,76	2,28	1,05–4,96	88,24	3,0
TNF-863:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	CC-CC-AG-CA	4,44	13,73	0,29	0,09–0,92	95,56	-4,9
TNF-308:IL1B-31:IL4-590	GG-CC-CC	3,33	11,76	0,26	0,07–0,95	96,67	-5,5
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-1082:IL10-592	CC-GG-GG-AG-CA	3,33	11,76	0,26	0,07–0,95	96,67	-5,5
IL4-590:IL10-1082:IL10-592	CC-AG-CA	4,44	15,69	0,25	0,08–0,78	95,56	-5,5
TNF-863:TNF-308:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	CC-GG-CC-AG-CA	2,22	10,78	0,19	0,04–0,87	97,78	-6,9
TNF-308:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	GG-CC-AG-CA	2,22	11,76	0,17	0,04–0,78	97,78	-7,2
TNF-863:TNF-238:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	CC-GG-CC-AG-CA	2,22	11,76	0,17	0,04–0,78	97,78	-7,2
TNF-238:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	GG-CC-AG-CA	2,22	13,73	0,14	0,03–0,65	97,78	-7,9
TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL4-590	CC-GG-CC-CC	1,11	9,80	0,10	0,01–0,82	98,89	-9,5
TNF-308:TNF-238:IL4-590:IL10-1082:IL10-592	GG-GG-CC-AG-CA	1,11	10,78	0,09	0,01–0,74	98,89	-9,9

количество исследуемых комбинированных генетических признаков, преимущественно ассоциированных с тем или иным заболеванием органов зрения. Большинство из них обладает высоким уровнем специфичности. Характерно, что в состав этих дискриминирующих признаков ни в одном случае не входят генотипы *VEGF* и *MMP* ни в одной из исследуемых пяти полиморфных позиций регуляторных участков соответствующих генов, несмотря на то что их присутствие было тщательным образом проанализировано при сплошном компьютерном биоинформационном анализе. В состав этих генетических комбинаций, накапливающихся в группе пациентов с ВМД, ни в одном случае не выявлены генотипы *IL6* в полиморфной позиции –174 C/G, хотя в группе пациентов с ДР они достаточно широко представлены (43,58 %). Предполагается, что эти результаты в очередной раз указывают на преимущественно воспалительный характер патологического процесса при ДР, в отличие от патогенеза ВМД, в котором преобладают дегенеративные и фиброгенные процессы. В пользу такого суждения свидетельствуют данные об активной провоспалительной и проангиогенной функции такого плейотропного цитокина, которым является интерлейкин-6 [19]. В заключение этого раздела работы следует отметить, что полиморфизм промотора C-174G гена *IL6* влияет на расход энергии и чувствительность к инсулину у здоровых нормогликемических субъектов, что, возможно, играет свою роль в развитии ДР [12].

Результаты сравнительного анализа исследуемых генетических комбинированных признаков показали наличие ряда общих конституциональных признаков у лиц, в генотипе которых одновременно присутствуют полиморфизмы *VEGF-2578:MMP3-1171* (AA-56), *VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171* (AA-CC-56), *TNF-863:IL1B-31:IL4-590:MMP3-1171* (CC-TT-CC-56) и *TNF-308:VEGF-2578:VEGF+936:MMP3-1171* (GG-AA-CC-56). Суммарное количество носителей таких индивидов в группах лиц с развившимся ВМД или ДР превышает 50 %. Одновременно в обеих сопоставляемых группах пациентов выявлены комбинированные генотипы, частота которых однотипно снижена, что, вероятно, свидетельствует о защитном, протективном характере их наследования. К ним относятся такие сочетания полиморфизмов, как *TNF-863:TNF-238:IL10-1082:VEGF+936* (CA-GG-AG-CC), *TNF-863:IL10-1082:VEGF+936:MMP9-1562* (CA-AG-CC-CC), *TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-1082:VEGF-2578* (GG-GG-GC-AG-CA) и *TNF-863:TNF-238:IL10-1082:VEGF+936:MMP9-1562* (CA-GG-AG-CC-CC).

Обращает на себя внимание, что в состав этих комбинаций практически всегда входят полиморфизмы генов *VEGF* и матричных металлопротеиназ в сочетании с генами провоспалительных цитокинов – интерлейкина-1, -6 и фактора некроза опухолей. Очевидно, это указывает на важное патогенетическое значение белковых продуктов данных генов в развитии офтальмопатологии, учитывая важнейшую роль этих регуляторных биомолекул в процессах ангиогенеза, ремоделирования соединительной ткани и воспаления [5, 7].

При рассмотрении полученных результатов необходимо учитывать, что в данном исследовании проводится сравнительный анализ именно общих или характерных черт для анализируемых видов офтальмопатологии, каждая из которых имеет свои особенности в генетической предрасположенности к развитию заболевания. Так, в базе данных PharmGKB содержатся сведения о 88 достоверных ассоциациях СД 2 типа с различными полиморфными участками генов и 39 метаанализах результатов полногеномных исследований [20]. Свои особенности имеют и генетические факторы развития ВМД [8].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные нами результаты демонстрируют возможность персонализировать предрасположенность значительной части пациентов пожилого возраста к развитию заболеваний глаз микроангиопатического или дегенеративного генеза с целью проведения целенаправленных профилактических мероприятий.

## ВЫВОДЫ

1. В результате биоинформационного анализа частоты распространенности полиморфизмов в регуляторных участках генов цитокинов среди пациентов и в репрезентативных контрольных группах установлены комбинированные иммуногенетические признаки предрасположенности и резистентности индивида к развитию дегенеративной макулодистрофии на доклиническом этапе.

2. В результате аналогичного биоинформационного анализа установлены комбинированные иммуногенетические признаки предрасположенности и резистентности пациента с СД 2 типа к развитию диабетической ретинопатии на доклиническом этапе.

3. Сравнительный биоинформационный анализ групп пациентов с ВМД и ДР позволил выявить в геномах пациентов ряд общих повторя-

ющихся комбинированных иммуногенетических признаков, характеризующих их предрасположенность или резистентность к обоим типам офтальмопатологии, развивающейся в пожилом возрасте. Наряду с этим установлены ранние конституциональные факторы высокого риска развития заболеваний глаз сосудистого или дегенеративного генеза.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабич П.Н., Чубенко А.В., Ланач С.Н. Применение современных статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение третье. Отношение шансов: понятия, вычисление и интерпретация // Укр. мед. журн. 2005. 46. (2). 113–119.
2. Вейр Б. Анализ генетических данных. Дискретные генетические признаки / ред. Л.А. Животовский, А.И. Пудовкин. М.: Мир, 1995. 400 с.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.
4. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина, 1978. 296 с.
5. Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Климонтов В.В., Тянь Н.В., Черных В.В., Черных Д.В., Еремина А.В., Трунов А.Н. Комбинации полиморфизмов в регуляторных участках генов цитокинов ассоциированы с диабетической ретинопатией у больных сахарным диабетом 2 типа // Бюл. сиб. мед. 2017. 16. (4). 173–183.
6. Шевченко А.В., Коненков В.И., Прокофьев В.Ф., Повещенко О.В., Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Ким И.И. Конституциональные основы уровней спонтанной и индуцированной продукции цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6 и IL-10 у здоровых лиц европеоидного населения России // Иммунология. 2016. 37. (5). 232–238.
7. Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И., Черных В.В., Еремина А.В., Дудникова Л.В., Кашкина Н.Ю., Трунов А.Н. Сетевой подход к анализу локусов количественных признаков генов фактора некроза опухолей (TNF $\alpha$ -863, TNF $\alpha$ -308, TNF $\alpha$ -238), фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF-2578, VEGF+936) и матриксных металлопротеиназ (MMP2-1306, MMP3-1171, MMP9-1569) при возрастной макулярной дегенерации // Мед. иммунология. 2017. 19. (5). 537–546.
8. Chernykh V., Shevchenko A., Konenkov V., Prokofiev V., Eremina A., Trunov A. TNF- $\alpha$  gene polymorphisms: association with age-related macular degeneration in Russian population // Int. J. Ophthalmol. 2019. 12. (1). 25–29.
9. Ding Q., Shi Y., Fan B., Fan Z., Ding L., Li F. The interleukin-10 promoter polymorphism rs1800872 (-592C>A) contributes to cancer susceptibility: Meta-analysis of 16 785 cases and 19 713 controls // PLoS One. 2013. 8. (2). e57246.
10. Fritsche L.G., Igl W., Bailey J.N.C., Grassmann F., Sengupta S. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants // Nat. Genet. 2016. 48. (2). 134–143.
11. Grassmann F., Heid I.M., Weber B.H. Recombinant Haplotypes Narrow the ARMS2/HTRA1 Association Signal for Age-Related Macular Degeneration // Genetics. 2017. 205. (2). 919–924.
12. Kubaszek A., Pihlajamäki J., Punnonen K., Karhapää P., Vauhkonen I., Laakso M. The C-174G promoter polymorphism of the IL-6 gene affects energy expenditure and insulin sensitivity // Diabetes. 2003. 52. (2). 558–561.
13. Leslie R.D., Pyke D.A. Diabetic retinopathy in identical twins // Diabetes. 1982. 31. (1). 19–21.
14. Lloyd C.J., Moldovan M.V. Exact one-sided confidence bounds for the risk ratio in 2  $\times$  2 tables with structural zero // Biom. J. 2007. 49. (6). 952–963.
15. Mishra B., Swaroop A., Kandpal R.P. Genetic components in diabetic retinopathy // Indian J. Ophthalmol. 2016. 64. (1). 55–61.
16. Resnikoff S., Pascolini D., Etya'ale D., Kocur I., Pararajasegaram R., Pokharel G.P., Mariotti S.P. Global data on visual impairment in the year 2002 // Bull. World Health Organ. 2004. 82. (11). 844–851.
17. Simó-Servat O., Hernández C., Simó R. Genetics in diabetic retinopathy: Current concepts and new insights // Curr. Genomics. 2013. 14. (5). 289–299.
18. Skoog T., Van't Hooff F.M., Kallin B., Jovinge S., Boquist S., Nilsson J., Eriksson P., Hamsten A. A common functional polymorphism (C->A substitution at position -863) in the promoter region of the tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene associated with reduced circulating levels of TNF-alpha // Hum. Mol. Genet. 1999. 8. (8). 1443–1449.
19. Taher M.Y., Davies D.M., Maher J. The role of the interleukin (IL)-6/IL-6 receptor axis in cancer // Biochem. Soc. Trans. 2018. 46. (6). 1449–1462.
20. Whirl-Carrillo M., McDonagh E.M., Hebert J.M., Gong L., Sangkuhl K., Thorn C.F., Altman R.B., Klein T.E. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine // Clin. Pharmacol. Ther. 2012. 92. (4). 414–417.

## THE PERSONALIZED IMMUNOGENOTYPIC PREDICTION OF HUMAN PREDISPOSITION TO OPHTHALMO-PATHOLOGY OF DIFFERENT GENESIS

Vladimir Iosifovich KONENKOV<sup>1</sup>, Alla Vladimirovna SHEVCHENKO<sup>1</sup>,  
Viktor Fedorovich PROKOF'EV<sup>1</sup>, Vadim Valerievich KLIMONTOV<sup>1</sup>,  
Dmitriy Valerievich CHERNYKH<sup>2</sup>, Valeriy Vyacheslavovich CHERNYKH<sup>2</sup>,  
Aleksandr Nikolaevich TRUNOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –  
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2*

<sup>2</sup> *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution of Minzdrav of Russia, Novosibirsk Branch  
630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

---

The purpose of the study was to search high-informative genetic criteria of the personalized forecast at presence of the earliest feebly marked of clinical attributes of organum visus pathology development. **Material and methods.** The results of immunogenotypic survey of 403 persons, among which 102 patients with age-related macular degeneration (AMD) and 90 patients with diabetic retinopathy (DR), 211 patients of similar gender and age as control groups of comparison are submitted. The analysis of regulation locus polymorphism *TNFA* (rs361525, rs1800629 and rs1800630), *IL1B* (rs1143627), *IL4* (rs2243250), *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800872, rs1800872) genes, vascular endothelial growth factor gene *VEGF* (rs3025039, rs699947), matrix metalloproteinases genes *MMP* (rs2438650, rs3025058, rs3918242) in this groups has been carried out. **Results and discussion.** Two groups of parameters have been shown through comparison of combined genetic attributes frequencies in comparable groups with/or absence AMD. One of these groups is distributed with primary frequency among patients with AMD whereas another is distributed only among elderly with absence of clinical and tool attributes of disease. On the contrary the significant prevalence of the attributes positively associated with the pathology development over negatively associated attributes has been revealed among DR. The revealed genetic attributes specify mainly inflammatory character of DR, as against AMD in which prevail degenerate and sclerogenic processes. **Conclusion.** Thus, the results of received genetic researches show an opportunity to personify predisposition of the significant part of elderly patients to development of ophthalmo-pathology microangiopathy or degenerate genesis with the purpose of realization of purposeful preventive actions.

---

**Key words:** age-related macular degeneration, diabetic retinopathy, cytokines genes, vascular endothelial growth factor gene, matrix metalloproteinases genes.

---

**Konenkov V.I.** – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, head of laboratory for clinical immunogenetics, scientific deputy director for sciences, e-mail: vikonenkov@gmail.com, ORCID.org/0000-0001-7385-6270

**Shevchenko A.V.** – doctor of biological sciences, leading researcher of laboratory for clinical immunogenetics, e-mail: shalla64@mail.ru, ORCID.org/0000-0001-5898-950X

**Prokof'ev V.F.** – candidate of medical sciences, leading researcher of laboratory for clinical immunogenetics, e-mail: vf\_prok@mail.ru, ORCID.org/0000-0001-7290-1631

**Klimontov V.V.** – doctor of medical sciences, professor of RAS, head of the laboratory of endocrinology, deputy director for science, e-mail: klimontov@mail.ru, ORCID.org/0000-0002-5407-8722

**Chernykh D.V.** – candidate of medical sciences, ophthalmologist, e-mail: nfmntk.dima@gmail.com, ORCID.org/0000-0002-3173-7748

**Chernykh V.V.** – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: sci@mntk.nsk.ru, ORCID.org/0000-0002-7623-3359

**Trunov A.N.** – doctor of medical sciences, professor, deputy director for science work, e-mail: trunov1963@yandex.ru, ORCID.org/0000-0002-7592-8984