

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2022-501>

УДК 616.33/.342-002.44:575.174.015.3:577.323]-055.1/.2(470.32)

Рашина Ольга Викторовна, e-mail: rashina.med.gen@yandex.ru.

Пол-специфические особенности ассоциаций полиморфных локусов генов-кандидатов с формированием язвенной болезни у жителей Центрального Черноземья России

**О.В. Рашина, М.И. Чурносков, И.Н. Сорокина, О.А. Ефремова,
И.В. Батлуцкая**

Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
308015, Российская Федерация, Белгород, ул. Победы, 85

Аннотация

Введение. Язвенная болезнь (ЯБ) желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) – это хроническое рецидивирующее мультифакториальное заболевание, в этиопатогенез которого вносит значительный вклад наследственная предрасположенность. При данном заболевании развивается хронический воспалительный процесс, в котором принимают участие молекулы клеточной адгезии. Заболеваемость ЯБ зависит от пола: мужчины болеют в 2–7 раз чаще по сравнению с женщинами. Работы по анализу пол-специфических особенностей ассоциации полиморфных локусов генов-кандидатов ЯБ немногочисленны, поэтому необходимо дальнейшее изучение данного вопроса.

Цель и масштаб исследования. Цель настоящей работы: изучение роли специально отобранных для исследования 9 полиморфных локусов (SNPs) генов-кандидатов ЯБ двух групп: первая – GWAS-значимые для ЯБ (rs2294008 *PSCA*, rs505922 *ABO*), вторая – гены молекул клеточной адгезии, патогенетически значимых для развития ЯБ (rs6136 *SELP*; rs8176720, rs2519093, rs507666 *ABO*; rs651007, rs579459, rs649129 *ABO/RF00019*), в формировании ЯБ у мужчин и женщин Центрального Черноземья России. Выборка состояла из

305 мужчин (188 – больные, 117 – контроль) и 441 женщины (211 – больные, 230 – контроль).

Материал и методы. Регуляторный потенциал SNPs оценивался с помощью интернет-ресурсов (HaploReg v4.1, PolyPhen-2, GTEEx Portal), анализ ассоциаций проводился методом логистической регрессии в рамках аллельной, аддитивной, доминантной и рецессивной генетических моделей.

Результаты. Аллель T rs2294008 гена *PSCA* в группе мужчин является протективным фактором в развитии ЯБ (OR = 0,39–0,64). У женщин данной закономерности не выявлено. Полиморфизм rs2294008 гена *PSCA* расположен в регионах гистоновых белков, маркирующих промоторы и энхансеры в слизистой оболочке желудка и пищевода, в области гиперчувствительности к ДНКазе в желудке, сайтах связывания с белком-регулятором POL2 и регуляторного мотива CTCF; влияет на экспрессию 10 генов, в т. ч. 4 (*LY6K*, *LYNX1*, *PSCA*, *THEM6*) в органе-мишени (желудок), альтернативный сплайсинг 3 генов, в т. ч. 2 генов (*JRK*, *LYNX1*) в тканях желудка и пищевода.

Ключевые слова: язвенная болезнь, язвенная болезнь желудка, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, *PSCA*, полиморфные варианты, мужчины, женщины.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Соответствие принципам этики: информированное согласие получено от каждого пациента.

Для цитирования:

Gender-specific features of associations of polymorphic loci of candidate genes with the formation of peptic ulcer in the population of the Central Chernozem Region of Russia

Olga V. Rashina, Mikhail I. Churnosov, Inna N. Sorokina, Olga A. Efremova, Irina V. Batlutskaya

Belgorod State National Research University,
85, Pobedy str., Belgorod, 308015, Russian Federation

Summary

Introduction. Peptic ulcer of the stomach and duodenum is a chronic recurrent multifactorial disease, the etiopathogenesis of which is significantly contributed by hereditary predisposition. With this disease, a chronic inflammatory process develops, in which cell adhesion molecules take part. The incidence of peptic ulcer disease (PUD) depends on gender: men get sick 2-7 times more often than women. There are few works on the analysis of gender-specific features of associations of polymorphic loci of candidate genes of YB, therefore, further study of this issue is necessary.

Aim: To study the role of two groups of candidate genes of PUD specially selected for the study of 9 polymorphic loci (SNPs): the first – GWAS-significant for peptic ulcer disease (rs2294008 *PSCA*, rs505922 *ABO*), the second - genes of cell adhesion molecules pathogenetically significant for the development of PUD (rs6136 *SELP*; rs8176720, rs2519093, rs507666 *ABO*; rs651007, rs579459, rs649129 *ABO/RF00019*), - in the formation of peptic ulcer disease in men and women of the Central Chernozem region of Russia. The sample consisted of 305 men (188 patients, 117 controls) and 441 women (211 patients, 230 controls).

Methods. The regulatory potential of SNPs was assessed using Internet resources (HaploReg v4.1, PolyPhen-2, GTEx Portal), the analysis of associations was carried out by the method of logistic regression in the framework of allelic, additive, dominant and recessive genetic models.

Results. The allele T rs2294008 of the *PSCA* gene in the group of men is a protective factor in the development of peptic ulcer disease (OR = 0.39-0.64). This pattern was not revealed in women. The rs2294008 polymorphism of the *PSCA* gene is located in the regions of histone proteins marking promoters and enhancers in the gastric and esophageal mucosa, in the area of hypersensitivity to DNase in the stomach, binding

sites with the POL2 regulatory protein and the CTCF regulatory motif; it affects the expression of 10 genes, including 4 (*LY6K*, *LYNX1*, *PSCA*, *THEM6*) in the target organ (stomach), alternative splicing of 3 genes, including 2 genes (*JRK*, *LYNX1*) in the tissues of the stomach and esophagus.

Keywords: peptic ulcer disease, gastric ulcer, duodenal ulcer, *PSCA*, polymorphic variants, men, women.

Conflict of interest: the authors do not declare a conflict of interest.

Financial disclosure: no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

Adherence to ethical standards: informed consent was obtained from all patients.

For citation:

Введение

Язвенная болезнь (ЯБ) желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) является хроническим рецидивирующим мультифакториальным заболеванием, в основе которого лежат сложные нервные, гипоталамо-гипофизарные, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковые и местные гастродуоденальные механизмы, приводящие к изменению трофических процессов в слизистой оболочке желудка и ДПК [1]. Частота встречаемости данной патологии среди взрослого населения колеблется от 5 до 10%, и каждый год регистрируется около 500 000 новых случаев заболеваемости ЯБ [2]. Среди мужчин заболеваемость ЯБ в 2–7 раз выше, чем среди женщин, а на один случай ЯБЖ приходится 4 случая язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (ЯБ ДПК) [2]. Осложнения ЯБ, особенно перфорации и кровотечения, представляют серьезную опасность в связи с их высокой частотой, тяжестью клинической картины и необходимостью проведения экстренного оперативного вмешательства [2].

Существенная роль в этиопатогенезе ЯБ принадлежит наследственной предрасположенности, т. к. она определяет индивидуальные особенности как строения, так и функционирования пищеварительной, нервной, эндокринной,

иммунной и других систем, тем самым повышая чувствительность организма к действию внешних факторов риска [3,4].

До настоящего времени полногеномный поиск ассоциаций с ЯБ (GWAS – genome-wide association studies [5]) осуществлен лишь двумя группами ученых [6,7]. В результате проведенных ими исследований установлена значимая связь с развитием ЯБ 10 локусов 8 генов: *PSCA* (rs2294008, rs2976388), *ABO* (rs505922, rs687621), *MUC6* (rs78459074), *FUT2* (rs681343), *CCKBR* (rs10500661), *MUC1* (rs147048677), *GAST* (rs34074411), *CDX2* (rs9581957), причем роль полиморфных вариантов rs2294008 и rs505922 была изучена в Японии только при развитии ЯБ ДПК. Также имеется ограниченное количество репликативных исследований, проведенных только для локусов rs2294008 и rs505922 [8-10]. В немногочисленных ассоциативных исследованиях широкого спектра генов-кандидатов ЯБ зачастую представлены неоднозначные и противоречивые результаты.

Молекулы клеточной адгезии (CAM) принимают активное участие в развитии хронического воспаления, активно развивающегося в том числе и при ЯБ. При воспалении действие белков адгезии – селектинов, экспрессируемых как на клетках эндотелия (E-endotelial-селектин, P-platelet-селектин), так и на самих лейкоцитах (L-leukocyte-селектин), приводит к активации эндотелия и снижению скорости движения лейкоцитов в кровеносных сосудах. Растворимая изоформа Р-селектина (sP-селектин) связывается с моноцитами и приводит к экспрессии на их поверхности тканевого фактора, являющегося индуктором свертывания крови. Молекулы клеточной адгезии иммуноглобулинового класса (ICAM – intracellular adhesion molecule), взаимодействуя с β_2 интегринами, способствуют прочному прикреплению лейкоцитов к эндотелию, а с помощью адгезивных молекул семейства иммуноглобулинов PECAM-1 (platelet-endotelial cell adhesion molecule) лейкоциты проходят через эндотелий сосудов к очагу воспалительной реакции [11].

Исходя из этих данных, изучение генетических детерминант CAM во взаимосвязи с ЯБ представляет значительный интерес. Результаты

полногеномных исследований свидетельствуют о вовлеченности более 20 SNPs в формирование уровня молекул клеточной адгезии. Во многих работах отмечена значимая связь полиморфизма гена *ABO* (rs579459, rs8176719, rs651007, rs8176746, rs2519093, rs649129, rs507666) с уровнем селектинов и других молекул адгезии в плазме крови [12-16]. Также давно известна связь O(I) группы крови по системе ABO с повышенным риском развития ЯБ, однако генетические исследования, лежащие в основе данной закономерности, не проводились. Следовательно, можно предположить возможную связь между полиморфными вариантами, детерминирующими уровень молекул клеточной адгезии и в том числе расположенными в регионе гена *ABO*, с риском развития ЯБ. Также необходимо проведение репликативных исследований GWAS-значимых для ЯБ полиморфных локусов в различных популяциях России, так как до настоящего времени эти исследования не проводились. В связи с тем, что ЯБ поражает мужчин в 2–7 раз чаще по сравнению с женщинами [2], а работы по анализу пол-специфических особенностей ассоциации полиморфных локусов генов-кандидатов ЯБ немногочисленны, необходимо дальнейшее изучение данного вопроса.

Цель исследования: изучить роль специально отобранных для исследования 9 полиморфных локусов генов-кандидатов ЯБ двух групп: первая – GWAS-значимые для язвенной болезни (ЯБ) (rs2294008 гена *PSCA*, rs505922 гена *ABO*), вторая – гены молекул клеточной адгезии, патогенетически значимых для развития ЯБ (rs6136 гена *SELP*, rs8176720, rs2519093, rs507666 гена *ABO*, rs651007, rs579459, rs649129 гена *ABO/RF00019*), в формировании ЯБ у мужчин и женщин Центрального Черноземья России.

Материал и методы

Для настоящего исследования были отобраны 746 неродственных индивидуумов русской национальности, являющихся коренными жителями Центрального Черноземья РФ. Обследованы 305 мужчин (40,88%) и 441 женщина (59,12%). Среди мужчин контрольная группа состояла из 117 человек

(38,36%, средний возраст - $48,64 \pm 13,52$ лет), группа больных – 188 человек (61,64%, средний возраст - $48,24 \pm 13,63$ лет), из которых ЯБЖ имели 68 больных, а ЯБ ДПК – 120. Среди женщин группу контроля составили 230 индивидуумов (52,15%, средний возраст - $49,23 \pm 12,75$ лет), группу больных – 211 пациенток (47,85%, средний возраст - $49,04 \pm 12,53$ лет), из которых 149 больных ЯБЖ и 62 больных ЯБ ДПК.

Участникам проводилось клинико-лабораторное и инструментальное обследование (эзофагогастродуоденоскопия с биопсией) на базе гастроэнтерологического отделения ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа» после добровольного информированного согласия на включение их в исследование.

Все 9 выбранных для анализа полиморфных вариантов имели выраженный регуляторный потенциал, который оценивался с помощью различных онлайн-баз данных: HaploReg v4.1 (регуляторный потенциал, <https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), GTEx Portal (связь с экспрессией и альтернативным сплайсингом генов в 54 тканях организма, <https://gtexportal.org>), PolyPhen-2 (оценка предикторного потенциала несинонимичной замены, <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>). Основанием для выбора локусов rs2294008 гена *PSCA* и rs505922 гена *ABO* послужили данные полногеномного исследования [4], а полиморфизмов rs6136 гена *SELP*, rs8176720, rs2519093, rs507666 гена *ABO*, rs651007, rs579459, rs649129 гена *ABO/RF00019* - их связь с уровнем молекул клеточной адгезии в сыворотке крови, по данным GWAS [12-16].

Генотипирование образцов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) было проведено на термоциклере CFX-96 (Bio-Rad), использовались наборы реагентов, подготовленные ООО «ТестГен» (Ульяновск, Россия). В результате популяционно-генетического исследования выбранных SNPs определено соответствие эмпирического распределения генотипов теоретически ожидаемому, согласно закону Харди – Вайнберга, а также рассчитаны частоты минорных аллелей (больше 5%).

Анализ ассоциаций полиморфных локусов генов-кандидатов ЯБ методом логистической регрессии в рамках аллельной, аддитивной, доминантной и рецессивной генетических моделей был проведен при помощи программного обеспечения gPLINK v2.050 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink>). Характер ассоциаций оценивался с помощью отношения шансов (OR – odds ratio), а также его 95% доверительного интервала (95% CI). При $OR > 1$ полиморфный вариант определялся как фактор риска развития ЯБ, при $OR < 1$ – как протективный фактор.

Также был проведен адаптивный пермутационный тест. Достоверными считались результаты при $p_{perm} < 0,05$. Оценка мощности обнаруженных ассоциаций проведена с помощью программы Quanto (v1.2.4) (<http://biostats.usc.edu/Quanto.html>).

Результаты и обсуждение

При популяционно-генетическом исследовании SNPs генов-кандидатов ЯБ у женщин и мужчин выполняется равновесие Харди – Вайнберга ($p > 0,05$) как среди больных, так и в контрольной группе, а частота минорных аллелей по всем изучаемым полиморфным вариантам была больше 5% (таблица 1).

В ходе настоящего исследования выявлены пол-специфические особенности ассоциаций полиморфизма генов-кандидатов с развитием ЯБ у жителей Центрального Черноземья России. В группе мужчин полиморфный локус rs2294008 гена *PSCA* ассоциирован с ЯБ, причем аллель Т имеет протективную направленность в отношении заболевания согласно аддитивной ($OR = 0,64$; 95% CI 0,45–0,89; $p = 0,009$; $p_{perm} = 0,010$; $N_{perm} = 1952$; мощность ассоциации = 75,25%) и доминантной моделей ($OR = 0,39$; 95% CI 0,22–0,69; $p = 0,001$; $p_{perm} = 0,001$; $N_{perm} = 19080$; мощность ассоциации = 96,12%). При обследовании женщин данной закономерности не выявлено (таблица 2).

Следует отметить, что наши данные согласуются как с результатами ранее выполненного в японской популяции полногеномного исследования и установившего рисковое значение аллеля С rs2294008 для ЯБ ДПК ($OR = 1,84$;

$p = 3,92 \times 10^{-33}$) [4], так и с другими репликативными исследованиями, проведенными по этому локусу среди населения Японии для ЯБЖ (аллель С, $OR = 1,13$; $p = 5,85 \times 10^{-7}$) [6] и ЯБ ДПК (аллель С, $OR = 1,34$; $p = 2,28 \times 10^{-6}$) [8], а также среди жителей Испании для ЯБ ДПК (аллель Т, $OR = 0,52$; $p = 0,005$) [7]. При этом следует подчеркнуть, что вышеперечисленные исследования проводились без деления обследуемых лиц по полу.

Таблица 1. Частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов-кандидатов у больных язвенной болезнью и индивидуумов контрольной группы среди женщин и мужчин

Table 1. Frequencies of alleles and genotypes of polymorphic variants of candidate genes in patients with peptic ulcer disease and control group individuals among women and men

SNP, ген SNP, gene	Генотип, минорный аллель, соответствие HWE Genotype, minor allele, HWE compliance	Женщины ($n = 441$) Women ($n = 441$)		Мужчины ($n = 305$) Men ($n = 305$)	
		Контроль ($n = 230$) Control ($n = 230$) % (n)	Больные ($n = 211$) Patients ($n = 211$) % (n)	Контроль ($n = 117$) Control ($n = 117$) % (n)	Больные ($n = 188$) Patients ($n = 188$) % (n)
rs6136 <i>SELP</i>	AA	84,35 (194)	80,09 (165)	81,90 (95)	81,52 (150)
	AC	14,78 (34)	18,45 (38)	16,38 (19)	16,85 (31)
	CC	0,87 (2)	1,46 (3)	1,72 (2)	1,63 (3)
	C	0,08	0,11	0,10	0,10
	P _{hwe}	0,66	0,71	0,30	0,40
rs2294008 <i>PSCA</i>	CC	23,04 (53)	28,44 (60)	17,09 (20)	33,51 (63)
	CT	49,57 (114)	49,76 (105)	56,41 (66)	43,62 (82)
	TT	27,39 (63)	21,80 (46)	26,50 (31)	22,87 (43)
	T	0,52	0,47	0,55	0,45
	P _{hwe}	0,90	1,00	0,19	0,11
rs8176720 <i>ABO</i>	TT	37,50 (84)	38,12 (77)	35,96 (41)	43,02 (77)
	TC	50,00 (112)	42,08 (85)	52,64 (60)	44,13 (79)
	CC	12,50 (28)	19,80 (40)	11,40 (13)	12,85 (23)
	C	0,38	0,41	0,38	0,35
	P _{hwe}	0,39	0,08	0,24	0,74
rs2519093 <i>ABO</i>	CC	63,60 (145)	69,42 (143)	68,70 (79)	68,85 (126)
	CT	32,02 (73)	28,15 (58)	26,95 (31)	26,78 (49)
	TT	4,38 (10)	2,43 (5)	4,35 (5)	4,37 (8)
	T	0,20	0,17	0,18	0,18
	P _{hwe}	0,84	1,00	0,35	0,31

SNP, ген SNP, gene	Генотип, минорный аллель, соответствие HWE Genotype, minor allele, HWE compliance	Женщины ($n = 441$) Women ($n = 441$)		Мужчины ($n = 305$) Men ($n = 305$)	
		Контроль ($n = 230$) Control ($n = 230$) % (n)	Больные ($n = 211$) Patients ($n = 211$) % (n)	Контроль ($n = 117$) Control ($n = 117$) % (n)	Больные ($n = 188$) Patients ($n = 188$) % (n)
rs505922 <i>ABO</i>	TT	33,93 (76)	41,79 (84)	41,82 (46)	36,87 (66)
	TC	50,45 (113)	43,28 (87)	49,09 (54)	50,28 (90)
	CC	15,62 (35)	14,93 (30)	9,09 (10)	12,85 (23)
	C	0,41	0,37	0,34	0,38
	P _{hwe}	0,58	0,36	0,39	0,43
rs507666 <i>ABO</i>	CC	87,33 (193)	88,44 (176)	94,64 (106)	91,62 (164)
	CT	12,22 (27)	11,06 (22)	4,46 (5)	7,26 (13)
	TT	0,45 (1)	0,50 (1)	0,90 (1)	1,12 (2)
	T	0,07	0,06	0,03	0,05
	P _{hwe}	1,00	0,52	0,09	0,05
rs651007 <i>ABO</i>	CC	59,29 (134)	62,44 (128)	64,35 (74)	64,84 (118)
	CT	34,07 (77)	34,15 (70)	30,43 (35)	30,22 (55)
	TT	6,64 (15)	3,41 (7)	5,22 (6)	4,94 (9)
	T	0,24	0,21	0,20	0,20
	P _{hwe}	0,36	0,67	0,56	0,49
rs579459 <i>ABO</i>	TT	59,56 (134)	64,39 (132)	61,74 (71)	63,74 (116)
	TC	35,11 (79)	32,68 (67)	33,91 (39)	32,42 (59)
	CC	5,33 (12)	2,93 (6)	4,35 (5)	3,84 (7)
	C	0,23	0,19	0,21	0,20
	P _{hwe}	1,00	0,65	1,00	1,00
rs649129 <i>ABO</i>	CC	59,39 (136)	64,53 (131)	62,28 (71)	65,19 (118)
	CT	34,06 (78)	33,00 (67)	33,33 (38)	30,39 (55)
	TT	6,55 (15)	2,47 (5)	4,39 (5)	4,42 (8)
	T	0,24	0,19	0,21	0,20
	P _{hwe}	0,46	0,37	1,00	0,64

Примечание: SNP – специально отобранные для исследования полиморфные локусы генов-кандидатов язвенной болезни, n – количество индивидуумов (больные и контрольная группа суммарно), включенных в анализ ассоциаций, HWE – равновесие Харди – Вайнберга, P_{hwe} - уровень значимости для соответствия равновесию Харди – Вайнберга.

Note: SNP – candidate genes of peptic ulcer disease specially selected for the study of polymorphic loci, n is the number of individuals (patients and control group in total) included in the association analysis, HWE – Hardy – Weinberg equilibration, P_{hwe} – level of statistical significance of Hardy – Weinberg equilibration.

Таблица 2. Ассоциации аллелей полиморфных вариантов генов-кандидатов с язвенной болезнью желудка у женщин и мужчин (аддитивная, доминантная, рецессивная генетические модели)

Table 2. Associations of alleles of polymorphic variants of candidate genes with peptic ulcer disease in women and men (additive, dominant, recessive genetic models)

Xp Chr	SNP	Ген Gene	MAF	n	Аддитивная модель Additive model				Доминантная модель Dominant model				Рецессивная модель Recessive model			
					OR	95% CI		p	OR	95% CI		p	OR	95% CI		p
						L95	U95			L95	U95			L95	U95	
Женщины Women																
1	rs6136	SELP	C	436	1,31	0,83	2,06	0,248	1,34	0,82	2,20	0,249	1,49	0,24	9,26	0,671
8	rs2294008	PSCA	T	441	0,79	0,61	1,04	0,089	0,75	0,49	1,16	0,200	0,71	0,46	1,11	0,132
9	rs8176720	ABO	C	426	1,13	0,86	1,48	0,401	0,95	0,64	1,41	0,807	1,68	0,99	2,84	0,055
9	rs2519093	ABO	T	434	0,79	0,56	1,13	0,197	0,80	0,53	1,20	0,270	0,57	0,19	1,69	0,308
9	rs505922	ABO	C	425	0,85	0,65	1,13	0,269	0,74	0,49	1,09	0,129	0,98	0,57	1,67	0,941
9	rs507666	ABO	T	420	0,96	0,55	1,68	0,876	0,95	0,52	1,72	0,867	1,02	0,06	16,43	0,99
9	rs651007	ABO	T	431	0,85	0,62	1,18	0,342	0,90	0,61	1,34	0,614	0,52	0,21	1,30	0,160
9	rs579459	ABO	C	430	0,82	0,59	1,15	0,251	0,84	0,56	1,25	0,383	0,56	0,20	1,51	0,250
9	rs649129	ABO	T	432	0,77	0,56	1,08	0,131	0,83	0,56	1,23	0,349	0,34	0,13	1,01	0,052
Мужчины Men																
1	rs6136	SELP	C	300	1,04	0,60	1,78	0,902	1,05	0,57	1,94	0,876	0,95	0,15	6,08	0,959
8	rs2294008	PSCA	T	305	0,64	0,45	0,89	0,009	0,39	0,22	0,69	0,001	0,75	0,44	1,03	0,308
9	rs8176720	ABO	C	293	0,88	0,61	1,25	0,468	0,73	0,44	1,19	0,205	1,67	0,56	2,43	0,682
9	rs2519093	ABO	T	298	1,06	0,69	1,62	0,789	1,09	0,65	1,82	0,755	1,02	0,31	3,27	0,980
9	rs505922	ABO	C	289	1,29	0,88	1,89	0,186	1,34	0,81	2,21	0,255	1,49	0,67	3,31	0,333
9	rs507666	ABO	T	291	1,53	0,66	3,53	0,319	1,73	0,64	4,69	0,278	1,46	0,13	17,08	0,763
9	rs651007	ABO	T	297	0,99	0,66	1,49	0,97	1,03	0,62	1,69	0,919	0,83	0,28	2,47	0,733
9	rs579459	ABO	C	297	0,95	0,63	1,45	0,815	0,97	0,60	1,59	0,917	0,77	0,23	2,58	0,671

9	rs649129	<i>ABO</i>	T	295	0,96	0,63	1,45	0,843	0,95	0,58	1,56	0,827	0,98	0,30	3,16	0,969
---	----------	------------	---	-----	------	------	------	-------	------	------	------	-------	------	------	------	-------

Примечание: Хр – хромосома; MAF – минорный аллель, OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал, L95 – нижняя граница 95% доверительного интервала, U95 – верхняя граница 95% доверительного интервала, *p* – уровень статистической значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые результаты с учетом адаптивного пермутационного теста. *n* – количество индивидуумов (больные и контрольная группа суммарно), включенных в анализ ассоциаций.

Note: Chr – chromosome, MAF – minor allele; OR – odds ratio, 95% CI – 95% confidence interval, L95 – lower bound of 95% confidence interval; U95 – upper bound of 95% confidence interval, *p* – level of statistical significance. Statistically significant results are highlighted in bold, taking into account the adaptive permutation test. *n* is the number of individuals (patients and control group in total) included in the association analysis

Далее в ходе нашего исследования мы проанализировали эпигенетическую роль полиморфного локуса rs2294008, ассоциированного с ЯБ у мужчин, являющихся коренными жителями Центрального Черноземья России. Согласно онлайн-базе данных HaploReg, указанный SNP имеет выраженный регуляторный потенциал: расположен в эволюционно консервативном районе, в регионах гистоновых белков, маркирующих промоторы в слизистой оболочке желудка и пищеводе, энхансеры, в области гиперчувствительности к ДНКазе в желудке, сайтах связывания с белком-регулятором POL2 и регуляторного мотива CTCF.

Данные интернет-ресурса GTEx Portal свидетельствуют о значимой роли rs2294008 в регуляции экспрессии 10 генов (*CTD-2292P10.4*, *JRK*, *LY6D*, *LY6K*, *LYNX1*, *LYPD2*, *PSCA*, *RP11-706C16.7*, *SLURP1*, *THEM6*) в 46 органах (тканях). Интерес представляют 9 из них (*CTD-2292P10.4*, *LY6D*, *LY6K*, *LYNX1*, *LYPD2*, *PSCA*, *RP11-706C16.7*, *SLURP1*, *THEM6*), которые экспрессируются в органах (тканях) пищеварительной системы: желудок (ген *LY6K*, NES = 0,33; $p = 0,0000033$; ген *LYNX1*, NES = -0,20; $p = 0,0000037$; ген *PSCA*, NES = 0,66; $p = 8,9e^{-53}$; ген *THEM6*, NES = 0,21; $p = 2,2e^{-11}$), пищеводно-желудочный переход (ген *CTD-2292P10.4*, NES = 0,35; $p = 0,0000076$; ген *LYNX1*, NES = -0,32; $p = 1,1e^{-10}$; ген *PSCA*, NES = 0,35; $p = 0,0000027$; ген *RP11-706C16.7*, NES = -0,35; $p = 1,1e^{-8}$), пищевод (слизистая и мышечная оболочки), толстая кишка (подвздошная, сигмовидная и поперечная ободочная); а также в структурах головного мозга, различных отделах периферической нервной системы и надпочечниках. Важно выделить влияние полиморфизма rs2294008 на экспрессию 4 генов (*LY6K*, *LYNX1*, *PSCA*, *THEM6*) в органе-мишени (желудке).

При оценке направленности ассоциации rs2294008 с экспрессией генов, проведенной с использованием показателя NES (normalized effect size – нормализованный размер эффекта), выявлено, что в органах пищеварительной системы аллель T rs2294008 связан с повышенной экспрессией (NES > 0) 7 генов (*CTD-2292P10.4*, *LY6D*, *LY6K*, *LYPD2*, *PSCA*, *SLURP1*, *THEM6*) и со

сниженной экспрессией ($NES < 0$) 2 генов (*RP11-706C16.7*, *LYNX1*). Непосредственно в желудке аллель Т повышает экспрессию генов *LY6K*, *PSCA*, *THEM6* и снижает экспрессию гена *LYNX1* (GTEx Portal). Следует отметить, что данные материалы получены для популяции в целом и не учитывают наличие возможных пол-специфических особенностей.

Последующее изучение показало влияние rs2294008 на альтернативный сплайсинг 3 генов (*JRK*, *LY6D*, *LYNX1*) в 9 органах (тканях), в т. ч. 2 генов в органах (тканях) желудочно-кишечного тракта: желудок (ген *JRK*, Intron Id142679856:142681705:clu_56031, $NES = 0,45$; $p = 9,3e^{-8}$), пищеводно-желудочный переход (ген *LYNX1*, Intron Id 142766171:142768864:clu_54955, $NES = -0,31$; $p = 6,7e^{-7}$), мышечная оболочка пищевода (ген *LYNX1*, Intron Id142765140:142768864:clu_57699, $NES = 0,33$; $p = 8,3e^{-9}$), сигмовидная кишка (ген *LYNX1*, Intron Id 142765140:142768864:clu_56194, $NES = 0,51$; $p = 2,7e^{-14}$) и головной мозг (ген *JRK*, Intron Id 142676208:142681705:clu_46111, $NES = -0,70$, $p = 1,8e^{-9}$). При этом аллель Т rs2294008, являющийся протективным фактором развития ЯБ, повышает альтернативный сплайсинг гена *JRK* в желудке, гена *LYNX1* в сигмовидной кишке и мышечной оболочке пищевода; снижает альтернативный сплайсинг гена *JRK* в головном мозге и гена *LYNX1* в пищеводно-желудочном переходе (данные получены из базы GTEx Portal, в которой не учитываются возможные пол-специфические особенности).

Таким образом, следует отметить, что ряд генов, с функциональной активностью которых связан rs2294008 за счет своих биологических эффектов, могут иметь значимое влияние на развитие ЯБ, особенно такие гены, как *PSCA*, *LY6K*, *LYNX1*, *THEM6*, *JRK*. При этом важно отметить, что современные биоинформатические базы данных (HaploReg, GTEx Portal) не позволяют провести «раздельный» анализ функциональных эффектов изучаемых полиморфных локусов у индивидуумов разного пола, что затрудняет медико-биологическую интерпретацию выявленных в настоящей работе пол-специфических особенностей ассоциаций полиморфизма генов-кандидатов с ЯБ с позиций пол-специфических различий влияния этих полиморфизмов на

эпигенетические модификации генома, экспрессию и сплайсинг генов. Необходимы как дальнейшие экспериментальные исследования в этой области, подтверждающие эти особенности, так и продолжение накопления материала в международных базах по функциональной геномике, который бы позволил в будущем проводить *in silico* анализ в зависимости от половой принадлежности индивидуумов.

На настоящий момент времени можно предполагать «ключевое» влияние на установленные нами различия в характере ассоциаций изученных генов-кандидатов с ЯБ у лиц разного пола, половых гормонов, значимость которых во всех процессах, происходящих в организме, в том числе в процессах, имеющих важное патогенетическое значение для развития ЯБ (воспаление, иммунный ответ и др.), не вызывает сомнений [17]. Эстроген оказывает протективное действие в отношении слизистой оболочки желудка и ДПК, благодаря чему мужчины более подвержены развитию заболевания, чем женщины, однако с наступлением у женщин менопаузы эти различия нивелируются. Недостаток эстрогенов также подавляет гуморальный иммунитет, что облегчает внедрение *H. pylori* и запуск язвообразования. В то же время половые гормоны могут иметь отношение к развитию эндотелиальной дисфункции за счет изменения уровня и биодоступности оксида азота, а также участию в продукции бикарбонатов и в общих адаптационных и приспособительных реакциях организма [17,18].

Ген антигена стволовых клеток простаты (*PSCA*) экспрессируется в различных органах, в том числе в дифференцирующихся эпителиальных клетках желудка, играет роль в пролиферации и обновлении клеток за счет кодирования гликозилфосфатидилинозитола [6,8,19]. Следовательно, в зависимости от уровня экспрессии ген *PSCA* может участвовать в разнонаправленных процессах, происходящих в слизистой оболочке желудка и ДПК: язвообразовании и малигнизации. Участие гена *PSCA* в качестве модулятора никотиновых ацетилхолиновых рецепторов может оказывать влияние на функционирование вегетативной нервной системы, дисбаланс в

которой является одним из этиопатогенетических факторов развития ЯБ [6,8–10].

Гены *LY6K*, *SLURP1*, *LYPD2* также вовлечены в клеточную пролиферацию, *LYNX1*, *LY6D*, *SLURP1*, *LYPD2* действуют как модуляторы активности никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, чем можно объяснить их роль в патогенезе ЯБ [19]. Гены *PSCA*, *LY6K*, *LYPD2*, *LY6D* участвуют в посттрансляционной модификации гликозилфосфатидилинозитол-заякоренных (GPI) белков, которые играют роль в различных биологических процессах, в том числе в клеточной адгезии и работе иммунной системы [20], что также имеет значение в патогенезе ЯБ.

Выводы

Аллель T rs2294008 гена *PSCA* в группе мужчин является протективным фактором в развитии ЯБ (OR = 0,39–0,64). У женщин данной закономерности не выявлено. Полиморфизм rs2294008 гена *PSCA* расположен в регионах гистоновых белков, маркирующих промоторы и энхансеры в слизистой оболочке желудка и пищеводе, в области гиперчувствительности к ДНКазе в желудке, сайтах связывания с белком-регулятором POL2 и регуляторного мотива CTCF; влияет на экспрессию 10 генов, в т. ч. 4 (*LY6K*, *LYNX1*, *PSCA*, *THEM6*) в органе-мишени (желудок), альтернативный сплайсинг 3 генов, в т. ч. 2 генов (*JRK*, *LYNX1*) в тканях желудка и пищевода.

Литература / References

1. Колотилова М.Л., Иванов Л.Н. Нейрогенно-генетическая теория этиологии и патогенеза язвенной болезни. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014;7–8:10–16. [Kolotilova M.L., Ivanov L.N. Neurogenic-genetic theory of the etiology and pathogenesis of peptic ulcer disease. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2014;7–8:10–16. (In Russ.)]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/neyrogenno-geneticheskaya-teoriya-etilogii-i-patogeneza-yazvennoy-bolezni> (6.12.2022).

2. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Царьков П.В., Королев М.П., Андреев Д.Н., Баранская Е.К. и др. Диагностика и лечение язвенной болезни у взрослых (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества колоректальных хирургов и Российского эндоскопического общества). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2020;30(1):49–70. [Ivashkin V.T., Maev I.V., Tsar'kov P.V., Korolev M.P., Andreev D.N., Baranskaya E.K. et al. Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer in Adults (Clinical Guidelines of the Russian Gastroenterological Association, Russian Society of Colorectal Surgeons and the Russian Endoscopic Society). *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2020;30(1):49–70. (In Russ.)]. DOI: 10.22416/1382-4376-2020-30-1-49-70.
3. Рашина О.В., Чурносов М.И. Многофакторный этиопатогенез язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021;(8):154–159. [Rashina O.V., Churnosov M.I. Multi-Factor etiopathogenesis of gastric and duodenal peptic ulcer disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;(8):154–159. (In Russ.)]. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-192-8-154-159.
4. Миняйло О.Н. Распределение аллелей и гапlobлочная структура полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ у больных *H.pylori*-негативной язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2020;6(4):488-502. [Minyaylo O.N. Allele distribution and haploblock structure of matrix metalloproteinase gene polymorphism in patients with *H. pylori*-negative gastric ulcer and duodenal ulcer. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(4):488-502. (In Russ.)]. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-5].
5. Полоников А.В, Клёсова Е.Ю, Азарова Ю.Э. Биоинформатические инструменты и интернет-ресурсы для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных полногеномными ассоциативными исследованиями мультифакториальных заболеваний (обзор). *Научные*

- результаты биомедицинских исследований*. 2021;7(1):15-31. [Polonikov A.V, Klyosova E.Yu, Azarova I.E. Bioinformatic tools and internet resources for functional annotation of polymorphic loci detected by genome wide association studies of multifactorial diseases (review). *Research Results in Biomedicine*. 2021;7(1):15-31. (In Russ.)] DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2
6. Tanikawa C., Urabe Y., Matsuo K., Kubo M., Takahashi A., Ito H. et al. A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for duodenal ulcer in the Japanese population. *Nature Genetics*. 2012;4(44):430–436. DOI: 10.1038/ng.1109.
 7. Wu Y., Murray G.K., Byrne E.M., Sidorenko J., Visscher P.M., Wray N.R. GWAS of peptic ulcer disease implicates *Helicobacter pylori* infection, other gastrointestinal disorders and depression. *Nature Communications*. 2021;12:1146. DOI: 10.1038/s41467-021-21280-7.
 8. Tanikawa C., Matsuo K., Kubo M., Takahashi A., Ito H., Tanaka H. et al. Impact of PSCA variation on gastric ulcer susceptibility. *PLoS One*. 2013;8(5). DOI: 10.1371/journal.pone.0063698.
 9. García-González M.A., Bujanda L., Quintero E., Santolaria S., Benito R., Strunk M. et al. Association of PSCA rs2294008 gene variants with poor prognosis and increased susceptibility to gastric cancer and decreased risk of duodenal ulcer disease. *International Journal of Cancer*. 2015;137(6):1362–1373. DOI: 10.1002/ijc.29500.
 10. Usui Y., Matsuo K., Oze I., Ugai T., Koyanagi Y., Maeda Y. et al. Impact of PSCA polymorphism on the risk of duodenal ulcer. *Journal of epidemiology*. 2021;31(1):12–20. DOI: 10.2188/jea.JE20190184.
 11. Galustian C., Elviss N., Chart H., Owen R., Feizi T. Interactions of the gastrotropic bacterium *Helicobacter pylori* with the leukocyte-endothelium adhesion molecules, the selectins – a preliminary report. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2003,36(3):127–134. DOI: 10.1016/S0928-8244(03)00021-X.

12. Barbalic M., Dupuis J., Dehghan A., Bis J.C., Hoogeveen R.C., Schnabel R.B. et al. Large-scale genomic studies reveal central role of ABO in sP-selectin and sICAM-1 levels. *Human Molecular Genetics*. 2010;19(9):1863–1872. DOI: 10.1093/hmg/ddq061.
13. Suhre K., Arnold M., Bhagwat A.M., Cotton R.J., Engelke R., Raffler J. et al. Connecting genetic risk to disease end points through the human blood plasma proteome. *Nat. Commun.* 2017;(8):15345. DOI: 10.1038/ncomms14357.
14. Emilsson V., Ilkov M., Lamb J.R., Finkel N., Gudmundsson E.F., Pitts R. et al. Co-regulatory networks of human serum proteins link genetics to disease. *Science*. 2018;361(6404):769–773. DOI: 10.1126/science.aaq1327.
15. Sun B.B., Maranville J.C., Peters J.E., Stacey D., Staley J.R., Blackshaw J. et al. Genomic atlas of the human plasma proteome. *Nature*. 2018;558(7708):73–79. DOI: 10.1038/s41586-018-0175-2.
16. Sliz E., Kalaoja M., Ahola-Olli A., Raitakari O., Perola M., Salomaa V. et al. Genome-wide association study identifies seven novel loci associating with circulating cytokines and cell adhesion molecules in Finns. *Med. Genet.* 2019;56:607–616. DOI: 10.1136/jmedgenet-2018-105965.
17. Липатова Т.Е., Тюльтеяева Л.А., Исламова Е.А., Хайбекова Т.В., Шульпина Н.Ю. Язвенная болезнь у женщин и мужчин: клинические, эндоскопические и морфофункциональные особенности у молодых и пожилых пациентов. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2020;16(1):164–167. [Lipatova T.E., Tyultyayeva L.A., Islamova E.A., Khaybekova T.V., Shulpina N.Yu. Peptic ulcer in women and men: clinical, endoscopic and morphofunctional features in young and elderly patients. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2020;16(1):164–167. (In Russ.)].
18. Radulovic P., Fucic A., Mijic A., Kruslin B. Estrogen receptor positive cells in gastric and duodenal ulcer: a pilot study. *Acta Clin. Croat.* 2012;51(1):187–188.
19. OMIM: An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders: [Электронный ресурс]. URL: <https://www.omim.org> (22.07.2022).

20. Шаронов Г.В., Балацкая М.Н., Ткачук В.А. Гликозилфосфатидилинозит-заякоренные белки как регуляторы примембранного цитоскелета. *Биохимия*. 2016;81(6):844–859. [Sharonov G.V., Balatskaya M.N., Tkachuk V.A. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins as regulators of cortical cytoskeleton. *Biochemistry*. 2016;81(6):844–859. (In Russ.)]. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26471622> (5.12.2022).

Информация о вкладе авторов

Рашина О.В. выделяла ДНК из периферической крови пациентов, генотипировала образцы ДНК, проводила поиск и анализ литературы по изучаемой теме, отбирала полиморфные локусы для исследования и оценивала их регуляторный потенциал с помощью онлайн-баз данных, сопоставляла полученные результаты с литературными данными, подготовила основную часть рукописи.

Чурносков М.И. сформулировал основную идею статьи, осуществлял надзор за выполнением всех этапов настоящего исследования, утвердил окончательный вариант рукописи.

Сорокина И.Н. проводила статистическую обработку данных и их интерпретацию, осуществляла поиск литературы по изучаемой теме.

Ефремова О.А. участвовала в формировании выборки и обследовании пациентов, разрабатывала дизайн исследования.

Батлуцкая И.В. осуществляла поиск литературы по изучаемой теме, участвовала в анализе полученных данных.

Information on author contributions

Rashina O.V. isolated DNA from the peripheral blood of patients, genotyped DNA samples, conducted literature search and analysis, selected polymorphic loci for research and evaluated their regulatory potential using online databases, compared the results with literary data, prepared the main part of the manuscript.

Churnosov M.I. formulated the main idea of the article, supervised the implementation of all stages of this study, approved the final version of the manuscript.

Sorokina I.N. carried out statistical data processing and interpretation, a literature search on the topic under study.

Efremova O.A. participated in the formation of a sample and examination of patients, developed the design of the study.

Batlutskaya I.V. carried out a literature search, participated in the analysis of the data obtained.

Сведения об авторах

Рашина Ольга Викторовна, аспирант, кафедра медико-биологических дисциплин, Белгородский государственный национальный исследовательский университет. ORCID 0000-0002-1182-7201.

E-mail: rashina.med.gen@yandex.ru.

Чурносов Михаил Иванович, д-р мед. наук, профессор, заслуженный работник высшей школы РФ, заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин, Белгородский государственный национальный исследовательский университет. ORCID 0000-0003-1254-6134.

E-mail: churnosov@bsu.edu.ru.

Сорокина Инна Николаевна, д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры медико-биологических дисциплин. Белгородский государственный национальный исследовательский университет. ORCID 0000-0001-9438-4858.

E-mail: sorokina@bsu.edu.ru.

Ефремова Ольга Алексеевна, д-р мед. наук, доцент, профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней № 2, Белгородский

государственный национальный исследовательский университет. ORCID 0000-0002-6395-1626.

E-mail: efremova@bsu.edu.ru.

Батлуцкая Ирина Витальевна, д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой биотехнологии и микробиологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет. ORCID: 0000-0003-0068-6586.

E-mail: bat@bsu.edu.ru.

Рашина Ольга Викторовна, e-mail: rashina.med.gen@yandex.ru.

Information about the authors

Olga V. Rashina, Graduate Student, Department of Medical and Biological Sciences, Belgorod State National Research University. ORCID 0000-0002-1182-7201.

E-mail: rashina.med.gen@yandex.ru.

Mikhail I. Churnosov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Honoured Worker of the Higher School of the Russian Federation, Head of the Department of Medical and Biological Sciences, Belgorod State National Research University. ORCID 0000-0003-1254-6134.

E-mail: churnosov@bsu.edu.ru.

Inna N. Sorokina, Dr. Sci (Biol.), Docent, Professor, Department of Medical and Biological Sciences, Belgorod State National Research University. ORCID 0000-0001-9438-4858.

E-mail: sorokina@bsu.edu.ru.

Olga A. Efremova, Dr. Sci (Med.), Docent, Professor, Department of Internal Diseases № 2, Head of the Department of Internal Diseases № 2, Belgorod State National Research University. ORCID 0000-0002-6395-1626.

E-mail: efremova@bsu.edu.ru.

Irina V. Batlutskaya, Dr. Sci (Biol.), Docent, Head of the Department of Biotechnology and Microbiology, Belgorod State National Research University. ORCID 0000-0003-0068-6586.

E-mail: bat@bsu.edu.ru.

Olga V. Rashina, e-mail: rashina.med.gen@yandex.ru.