Гуурсан хоолойн багтраа өвчний эрсдэлд rs16924159, rs928413 ба rs333 полиморфизмуудын үзүүлэх нөлөөг судлах нь

Д.Үүрийнцолмон[1,2], Б.Золзаяа[1], Г.Чимэдлхамсүрэн[1], Б.Баярлах[1], Б.Минжин[1], Ө.Элбэрэлт[1], Д.Дэнсэнбал[3], Д.Ичинноров[3], Ж.Сарантуяа[1,2]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Молекул биологи-Удам зүйн тэнхим
[2]АШУҮИС, Био-Анагаахын хүрээлэн
[3]АШУҮИС, АУС, Уушги, харшил судлалын тэнхим
Цахим шуудан: uuriintsolmon.agu@gmail.com, Утас: 99456732

Түлхүүр үг:

Интерлейкин-33
Хемокины рецептор 5
Нэг нуклеотидын полиморфизм
Генетик
Эрсдэлт хүчин зүйл

Товч утга:

Үндэслэл: Гуурсан хоолойн багтраа өвчний эмгэг жамд нөлөөлдөг байж болох олон кандидат генүүд байдаг. Эдгээрийн нэг нь IL-33 ген юм. **Зорилго:** CCR5 генийн rs333 ба IL-33 генийн rs16924159, rs928413 полиморфизмыг гуурсан хоолойн багтраа өвчний эрсдэл ба шинж тэмдгийн хяналттай холбон судлах. **Арга, аргачлал:** Бид энэхүү судалгааг аналитик судалгааны тохиолдол хяналтын загвар ашиглан, АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2022/3-03 тоот хурлаар олгосон зөвшөөрлийн дагуу хийж гүйцэтгэсэн. Бид тус генийн rs928413, rs16924159 полиморфизмуудыг ГХБӨ-тэй 201 хүнтэй тохиолдол болон 201 хяналтын бүлгийн хүмүүсийн дунд харьцуулан судлав. Генотипийг аллель-өвөрмөц полимеразын гинжин урвалын аргаар тодорхойлсон. **Үр дүн:** Тохиолдол ба хяналтын бүлэг нас, хүйсийн харьцаа, биеийн жингийн индексээр ойролцоо байв ($p>0.05$). Судалгаанд оролцогчдын дунд CCR5 генийн rs333 полиморфизмын аллель ба генотипийн давтамжийг харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсангүй. Өөрөөр хэлбэл бүлгүүдэд аллель, генотипийн давтамжууд ойролцоо байлаа. Нэг хүчин зүйлийн регрессийн дүн шинжилгээгээр rs16924159 полиморфизмын A аллель (OR=1.83, 95% ИИ, 1.35-2.48, $p<0.001$), A/A генотип (OR=4.09, 95% ИИ, 1.96-8.55, $p<0.001$) тохиолдлын бүлэгт ач холбогдол бүхий давамгай илэрсэн. rs928413, rs16924159 полиморфизмуудын A аллелийг ноёлогч, ноёлогдогч, бүрэн бус давамгайлал гэсэн генетик загвараар харьцуулахад ГХБӨ-ний эрсдэлд ач холбогдол бүхий холбоо хамаарал илэрсэн. Ноёлогдогч загварын үед аль аль полиморфизмын A/A генотип ГХБӨ-д эрсдэлт нөлөөтэй байлаа. Бидний үр дүн IL-33 генийн rs928413 ба rs16924159 полиморфизмууд ГХБӨ-ний генетик эрсдэлт хүчин зүйл байж болохыг харууллаа. **Дүгнэлт:** IL-33 генийн rs16924159, rs928413 полиморфизмууд нь ГХБӨ-д өртөмхий байдлыг нөхцөлдүүлэгч генетик хүчин зүйл болохыг тогтоолоо.

Үндэслэл: Гуурсан хоолойн багтраа өвчин (ГХБӨ) нь олон хүчин зүйлийн нөлөөгөөр үүсдэг, амьсгалын замын үрэвсэл, харшлын цочмог (эмнэлзүйд амьсгал боогдох, амьсгаадах, ханиалгах зовиур илэрдэг) урвалаас үүдэн агаарын урсгалын хязгаарлалт бий болдог халдварт бус, архаг дахилтат явцтай, эргэх шинж чанартай өвчин юм.[1] 2019 оны байдлаар дэлхий дээр нийт 262 сая ГХБӨ-ний тохиолдол бүртгэгдсэн бөгөөд 455000 хүн тус өвчний улмаас нас барсан байна.[2] ГХБӨ нь өвчтөн, тэдний гэр бүлийн болон нийгэм эдийн засгийн хувьд дарамт учруулж, амьдарлын чанарт нөлөөлж ажлын бүтээмжийг бууруулдаг.[3] ГХБӨ нь маш олон төрлийн эмгэг жам, этиологи, эмнэлзүйн илрэлийг өөртөө багтаасан өвчин бөгөөд ихэвчлэн хувь хүний генетикийн онцлогоос хамаарч хүрээлэн буй орчны тодорхой сэдээгчид мэдрэг байх өвөрмөц

фенотипээр илэрдэг.[4]

Интерлейкин 33 (ИЛ-33) нь ГХБӨ-ний эмгэг жамд чухал үүрэгтэй оролцдог цитокин бөгөөд эпитель эсүүдээс их хэмжээгээр нийлэгжин үрэвслийн механизмыг өдөөдөг. ГХБӨ-ний эмгэг жамд Т-туслах (Th2) эс, шигүү мөхлөгт эс, базофиль, эозинофиль эсүүд оролцож үрэвслийн механизмыг өрнүүлдэг бөгөөд эдгээр эсүүдийн гадаргууд ИЛ-33-ын хүлээн авуур болох ST2 рецептор их хэмжээгээр илэрдэг. Guangyang Zhang нар (2019) *IL*-33 генийн rs16924159 полиморфизмын гомозигот A/A генотиптэй хүмүүст ийлдсийн ИЛ-33-ын хэмжээ харьцангуй өндөр, ГХБӨ-өөр өвдөх эрсдэл 1.91 дахин өндөр байгааг тогтоожээ.[5] Сүүлийн жилүүдэд *IL*-33 генийн идэвхжлийг нэмэгдүүлэгч хүчин зүйлүүдийг судалж цаашлаад уг генийн идэвхжлийг бууруулах, саатуулах байдлаар ГХБӨ-ийг эмчлэх, үрэвслийн урвалыг саатуулах шинэ аргуудыг нээх чиглэлд түлхүү судалгаанууд хийгдэх болжээ. Бид rs16924159, rs928413 полиморфизмын A аллель, A/A генотип нь ийлдсийн ИЛ-33-ын хэмжээг нэмэгдүүлэхэд хүргэн, улмаар ГХБӨ-д өртөмхий болгох эрсдэлт хүчин зүйл, мөн эмчилгээний хяналтанд нөлөөлөх хүчин зүйл хэмээн таамаглаж юм. C-C хемокины рецептор 5 (CCR5) нь 3-р хромосомын богино мөрөн дээр байрладаг, үрэвслийн голомтод лейкоцитүүдийн хемотаксид оролцдог рецептор бөгөөд Т эс, макрофаг, дентрит эс, эозинофил эсийн гадаргуу дээр илэрдэг.[6]

CCR5-Δ32 (rs333) нь *CCR5* генийн полиморфизм бөгөөд уг генийн нэг хэсэг нь делеци болсноор эсийн гадагууд илрэлгүй болдог. Mitchell (2000) нарын судалгаагаар *CCR5* генийн Δ32 делеци нь үйл ажиллагааны хувьд харшлын астмад нөлөөлдөг байж болохыг дурьджээ.[7]

Hall (1999) нарын судалгаагаар *CCR5*-Δ32 (rs333) делеци аллель нь ГХБӨ-д өртөмхий бус байх, өвчин үүсэхээс сэргийлэх хүчин зүйл хэмээн тодорхойлжээ.[8] *CCR5*-Δ32 (rs333) полиморфизм нь ГХБӨ-д өртөмхий бус байх, өвчин үүсэхээс сэргийлэх хүчин зүйл хэмээн таамаглаж байна.

Зорилго: *CCR5* генийн rs333 ба *IL*-33 генийн rs16924159, rs928413 полиморфизмыг гуурсан хоолойн багтраа өвчний эрсдэл ба шинж тэмдгийн хяналттай холбон судлах

Арга, аргачлал: Бид энэхүү судалгааг аналитик судалгааны тохиолдол хяналтын загвар ашиглан, АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2022/3-03 тоот хурлаар олгосон зөвшөөрлийн дагуу хийж гүйцэтгэсэн. Судалгаанд Төрийн тусгай албан хаагчдын нэгдсэн эмнэлэг (ТТАХНЭ), Эрдэнэт медикал эмнэлэг, Улсын хоёрдугаар төв эмнэлэг (УХТЭ)-т үйлчлүүлж буй үйлчлүүлэгчидээс Багтрааны эсрэг Олон Улсын санаачлага (GINA)-аас гаргасан удирдамжын дагуу ГХБӨ-тэй болох нь оношлогдсон 201 хүнийг тохиолдлын бүлэгт, харьцангуй эрүүл 201 хүнийг хяналтын бүлэгт хамруулсан. Судалгаанд оролцогчдоос 3-5 мл цус авч AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Солонгос) цомог ашиглан үйлдвэрлэгчийн стандарт протоколын дагуу геномын ДНХ-ийг ялган, сорьц тус бүрийн гарц, цэвэршилтийг NanoDrop 1000 загварын спектрофотометр (ThermoFisher Scientific, АНУ) ашиглан 260/280 нм долгионуудын харьцаа нь 1.8-2.0 хооронд байхаар тооцсон. IL33 генийн rs16928459, rs928413 полиморфизмыг аллель өвөрмөц ПГУ-ын аргаар rs16928459 полиморфизмын 118 х.н, rs928413 полиморфизмын 97 х.н бүхий бай дараалыг олшруулж, гель электрофорезийн аргаар үр дүнг баталгаажуулсан. *CCR5* генийн rs333 полиморфизмыг Tracey J Mitchell (2000) нарын судалгаанд ашигласан праймерын дараалыг ашиглан ПГУ-ын аргаар 189 х.н болон 157 х.н урттай бай дараалыг олшруулан гель электрофорезийн аргаар үр дүнг баталгаажуулсан.[7]

Нуклеотидын дараалал тогтоох аргын үр дүнг Sequencher 5.4.6 программ ашиглан боловсруулалт хийсэн. Судалгааны бүлгүүдэд чанарын мэдээлэл тооцохдоо Пирсоны хи квадрат тест, Фишерийн тест ашиглан тооцооллоо. Тоон мэдээлэлд арифметик дундаж, стандарт хазайлт, итгэх интервалыг тодорхойлж, бүлгүүдийн тоон үзүүлэлтийн ялгааг Стьюдентийн Т тест аргаар тооцоолсон. Дунджуудын хооронд статистик ач холбогдол бүхий ялгааг 95 хувийн итгэх интервалаар баталгаажуулсан.

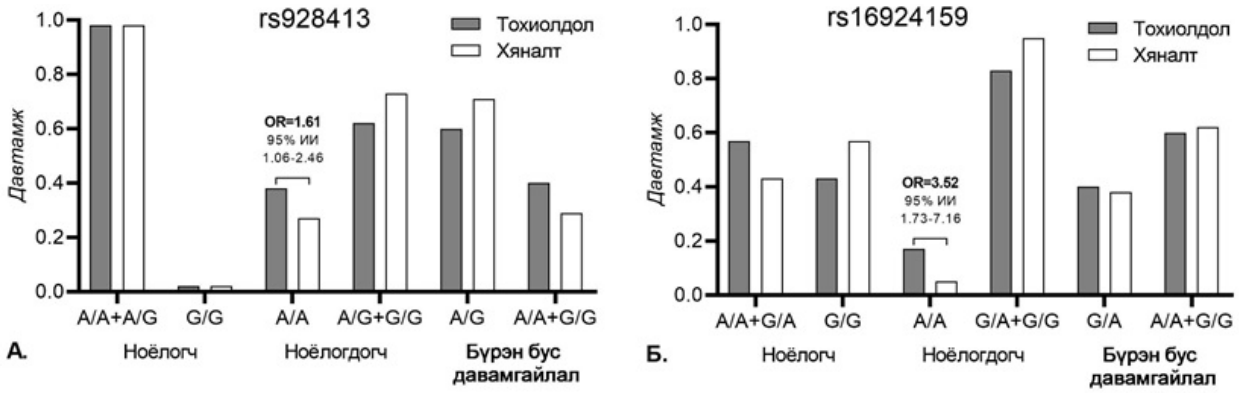
Үр дүн: Тохиолдол ба хяналтын бүлэг нас, хүйсийн харьцаа, биеийн жингийн индексээр ойролцоо байв ($p>0.05$). Судалгаанд оролцогчдын дунд *CCR5* генийн rs333 полиморфизмын аллель ба генотипийн давтамжийг харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсангүй. Өөрөөр хэлбэл бүлгүүдэд аллель, генотипийн давтамжууд ойролцоо байлаа ($p>0.05$, Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. *CCR5* ба *IL*-33 генийн полиморфизмын аллель, генотипийн давтамжийг бүлгүүдэд харьцуулсан дүн

Ген	Аллель / генотип	Тохиолдол (N=201)	Хяналт (N=201)	OR	95% CI	P утга
CCR5 rs333	Ins	394	393	1.13	0.43-2.95	0.806
	Del	8	9	1.0	-	-
	Ins/Ins	193	192	1.13	0.43-2.99	0.804
	Ins/Del	8	9	1.0	-	-
IL-33 rs928413	A	197	197	1.17	0.86-1.59	0.326
	G	125	146	1.0	-	-
	A/A	76	55	1.38	0.33-5.77	0.657
	A/G	121	142	0.85	0.21-3.48	0.824
	G/G	4	4	1.0	-	-
IL-33 rs16924159	G	253	149	1.0	-	-
	A	304	98	1.83	1.35-2.48	0.0001
	G/G	86	114	1.0	-	-
	G/A	81	76	1.41	0.93-2.15	0.107
	A/A	34	11	4.09	1.96-8.55	0.0002

Тайлбар: *Тоон хувьсагчууд бодит тоогоор илэрхийлэгдсэн. P утгыг Хи квадрат тестээр тооцоолсон. Харьцангуй харьцаа ба 95%-ийн итгэх интервалыг Логистик Регрессийн шинжилгээгээр тооцоолов.*
Товчлол: *Ins, Инсерци; Del, Делеци; OR, Харьцангуй харьцаа; ИИ, Итгэх интервал;*

Мөн IL-33 генийн rs928413 полиморфизмын аллель, генотипийн давтамж бүлгүүдэд ойролцоо байлаа. Харин rs16924159 полиморфизмын A аллель (OR=1.83, 95% CI, 1.35-2.48, p<0.001), A/A генотип (OR=4.09, 95% CI, 1.96-8.55, p<0.001) тохиолдлын бүлэгт давамгай илэрсэн. Өөрөөр хэлбэл *IL*-33 генийн rs16924159 полиморфизмын дээрхи аллель, генотип нь ГХБӨ-д эрсдэлт нөлөөтэй байгаа нь тогтоогдлоо. IL-33 генийн полимофизмуудыг ноёлогч, бүрэн бус давамгайлал, ноёлогдогч гэсэн загвараар бүлгүүдэд давтамжийг харьцуулав. (Зураг 1)



Зураг 1. IL-33 генийн rs928413, rs16924159 полиморфизмын генотип давтамжийг бүлгүүдэд харьцуулсан нь

Тайлбар: А) rs928413 полиморфизмын генотипийн давтамжийг генетик загваруудаар бүлгүүдэд харьцуулав. Б) rs16924159 полиморфизмын генотипийн давтамжийг генетик загваруудаар бүлгүүдэд харьцуулав. P утгыг Хи квадрат тестээр тооцоолсон. Харьцангуй харьцаа ба 95%-ийн итгэх интервалыг Логистик Регрессийн шинжилгээгээр тооцоолов.
Товчлол: OR, Харьцангуй харьцаа; 95% ИИ, 95%-ийн итгэх интервал;

IL-33 генийн rs928413 полиморфизмын A аллель ноёлогдогч загвараар ГХБӨ-д (OR=1.61, 95% CI, 1.06-2.46, p=0.026) эрсдэлт нөлөөтэй байсан бол A/G гетерозигот генотип хамгаалах нөлөө (OR=0.63, 95% CI, 0.42-0.95, p=0.028)-тэй байсан. rs16924159 полиморфизмын A аллель ноёлогдогч үед хүчтэй эрсдэлт нөлөө (OR=3.52, 95% CI, 1.73-7.16, p=0.0005)-тэй байв. Өөрөөр хэлбэл rs16924159 полиморфизмын A/A генотиптэй хүмүүс ГХБӨ-өөр өвчлөх эрсдэл бусдаас 3.52 дахин өндөр байгаа юм.

Хэлцэмж: Генотип ба фенотипийн мэдээллийн санд байх ALFA төслийн мэдээллээр CCR5 генийн rs333 полиморфизмын Δ32делеци аллель Европчуудад 0.109, Африк америкчуудад 0.024 тархалттай байна. Харин Азиудын дунд уг аллелийн давтамж байхгүй (0) байсан нь угсаатан, үндэстнүүдийн дунд тархалт харилцан адилгүй байдаг болохыг илтгэж байна.[11] Бидний судалгаанд оролцсон иргэдийн дунд Δ32делеци аллель 0.021 давтамжтай байгаа нь Африк америкчуудын давтамжтай оройлцоо байсан бөгөөд ГХБӨ-тэй ба хяналтын бүлгүүдэд ойролцоо илэрлээ. Энэ нь Mitchell болон Szalai (2000) нарын судалгааны үр дүнтэй ойролцоо байлаа.[7,8] Харин Hall (1999) нарын судалгаанд Δ32делеци аллель ГХБӨ-өөс хамгаалах хүчин зүйл болж байгааг дурьдсан ба цаашид Δ32делеци аллелийн давтамж харьцангуй өндөр бүлгүүдэд ГХБӨ-д нөлөөлөх эрсдлийг тодруулан судлах шаардлагатай байна. [9]

Guangyang Zhang (2019) нар IL-33 генийн rs16924159 полиморфизмын гомозигот A/A генотиптэй хүмүүст ийлдсийн ИЛ-33-ын хэмжээ харьцангуй өндөр, ГХБӨ-өөр өвдөх эрсдэл 1.91 дахин өндөр байгааг тогтоожээ.[5] Semaa A.Shaban (2021) нарын судалгаанд IL-33 генийн rs928413 A/A генотиптэй хүмүүст ГХБӨ-өөр өвдөх эрсдэл ач холбогдол бүхий хамааралтай ажиглагдсан.[10] Бидний судалгааны үр дүнгээр IL-33 генийн rs16924159 полиморфизмын A/A генотип (OR=3.52, 95% CI, 1.73-7.16, p=0.0005) ГХБӨ-д хүчтэй эрсдэлт нөлөөтэй, rs928413 полиморфизмын A/A генотип (OR=1.61, 95% CI, 1.06-2.46, p=0.026) эрсдэлт нөлөөтэй тодорхойлогдсон. Энэ нь бусад судлаачдын үр дүнтэй ойролцоо байгаа ба IL-33 генийн rs16924159, rs928413 полиморфизмууд нь ГХБӨ-ний генетик эрсдэлт хүчин зүйл болохыг харуулж байна.

Дүгнэлт: *IL*-33 генийн rs16924159, rs928413 полиморфизмууд нь ГХБӨ-д өртөмхий байдлыг нөхцөлдүүлэгч генетик хүчин зүйл болохыг тогтоолоо.

Талархал: Энэхүү судалгааг АШУҮИС-ийн ШУТДС-ийн санхүүжилттэй No.1/18 төсөл, БШУЯ-ны Шинжлэх Ухаан Технологийн Сангийн 2020/48 төслийн хүрээнд хийж гүйцэтгэв.

Ном зүй:

1. *Global Initiative for Asthma (GINA). Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2019. Available at: http://ginasthma.org/ [Accessed 2019 Dec 23].*
2. *WHO. Chronic respiratory diseases. Asthma: Definition. Available at: https://www.who.int/respiratory/asthma/definition/en/ [Accessed 2021 Mar 10].*
3. *Global Asthma Network. The Global Asthma Report 2018. Available at: http://www.globalasthmareport.org [Accessed 2019 Dec 23].*
4. *Subbarao P, Mandhane PJ, Sears MR. Asthma: epidemiology, etiology and risk factors. CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne. 2009;181(9):E181-190.*
5. *Zhang G, Lu J, Yin X, Sun Y, Li S. Association of IL-33, IL1RL1 gene polymorphisms with serum IL-33 levels and risk of asthma in adults and asthmatic bronchitis in children (Chinese). Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2018;32(5):1251-1256.*
6. *Proost P, Wuyts A, van Damme J. The role of chemokines in inflammation. International journal of clinical & laboratory research. 1996;26(4):211-223.*
7. *Mitchell TJ, Walley AJ, Pease JE, et al. Delta 32 deletion of CCR5 gene and association with asthma or atopy. Lancet (London, England). 2000;356(9240):1491-1492.*
8. *Hall IP, Wheatley A, Christie G, McDougall C, Hubbard R, Helms PJ. Association of CCR5 delta32 with reduced risk of asthma. Lancet (London, England). 1999;354(9186):1264-1265.*
9. *Szalai C, Bojszkó A, Bekö G, Falus A. Prevalence of CCR5delta32 in allergic diseases. Lancet (London, England). 2000;355(9197):66.*
10. *Shaban SA, Brakhas SA, Ad'hiah AH. Interleukin-33 gene variants (rs928413, rs16924159 and rs7037276) and susceptibility to asthma among Iraqi adult patients. Meta gene. 2021;29:100907.*
11. *National Center for Biotechnology Information. National Library of Medicine. Avialable at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1234 [Accessed 2021 Mar 10].*

To investigate the effect of rs16924159, rs928413 and rs333 polymorphisms on asthma risk

Uuriintsolmon D[1,2], Zolzaya B[1], ChimedlkhamsurenG[1], Bayarlakh B[1], Minjin B[1], Elberelt U[1], Densenbal D[3], Ichinnorov D[3], Sarantuya J[1,2]

[1]Department of Molecular biology and Genetics, School of Biomedicine, MNUMS
[2]Institute of Biomedicine, MNUMS
[3]Department of Allergy and Pulmonology, School of Medicine, MNUMS
E-mail: uuriintsolmon.agu@gmail.com, Tel: +976-99456732

Background: A number of potential candidate genes have been implicated in the pathogenesis of asthma. One of them is IL-33, proposed to influence asthma susceptibility.

Aim: To associate CCR5 gene rs333, IL-33 gene rs16924159 and rs928413 polymorphisms with the risk and characteristics of bronchial asthma.
Materials and Methods: rs928413 and rs16924159 polymorphisms of IL-33 gene were included in a case-control study conducted on 201 Mongolian patients with asthma and 201 controls. Allele-specific polymerase chain reaction was performed for genotyping.
Results: Univariate regression analysis showed that the frequencies of A allele (OR=1.83, 95% CI, 1.35-2.48, p<0.001), A/A genotype (OR=4.09, 95% CI, 1.96-8.55, p<0.001) of rs16924159 were significantly higher in case group. Comparing by genetic models, which were recessive, dominant, incomplete dominant for A allele of rs928413, rs16924159 indicates significant association for asthma risk. In recessive model, A/A genotype of both polymorphism, statistically associated with increased risk of asthma.
Conclusion: Our result suggested that rs928413 and rs16924159 polymorphism of IL-33 might be the genetic risk factor for asthma.

Keywords: Interleukin-33, Chemokine receptor 5, Single nucleotide polymorphism, Genetic, Risk factor