

УДК 616.379-008.646:575.174.015.3

DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-173-183

Для цитирования: 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. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (4): 173–183.

Комбинации полиморфизмов в регуляторных участках генов цитокинов ассоциированы с диабетической ретинопатией у больных сахарным диабетом 2 типа

Коненков В.И.¹, Шевченко А.В.¹, Прокофьев В.Ф.¹, Климонтов В.В.¹,
Тянь Н.В.¹, Черных В.В.², Черных Д.В.², Еремина А.В.², Трунов А.Н.²

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии (НИИКЭЛ), филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук
Россия, 630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, Новосибирский филиал
Россия, 630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

РЕЗЮМЕ

Диабетическая ретинопатия (ДР) является одной из ведущих причин предотвратимой потери зрения во всем мире. Хроническое воспаление низкой интенсивности и аномальный ангиогенез – важные элементы патогенеза ДР – сопровождаются нарушением баланса цитокинов. Показано, что однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) в промоторах генов оказывают влияние на уровень продукции цитокинов в нормальных и патологических условиях.

В связи с этим целью данного исследования стал анализ частот комбинаций SNPs, локализованных в промоторах генов цитокинов, у больных сахарным диабетом (СД) 2 типа с наличием и отсутствием ДР.

Материал и методы. В исследование включены 201 больной СД 2 типа европеоидного происхождения, в том числе 90 пациентов с непролиферативной или препролиферативной ДР, и 111 пациентов без ДР. Изучены восемь SNPs, локализованных в промоторах генов *TNFA* (rs1800630, rs1800629, rs361525), *IL1B* (rs1143627), *IL4* (rs2243250), *IL6* (rs1800795) и *IL10* (rs1800896, rs1800872). В группах больных СД с наличием и отсутствием ДР рассчитана частота встречаемости аллелей, генотипов и их комбинаций, отношение шансов, специфичность. Визуализацию взаимодействий между генами и квартилями гликированного гемоглобина A1c (HbA_{1c}) в виде интерактивной биологической сети осуществляли в программе Cytoscape.

Результаты. Выявлены 36 комбинаций SNPs, частоты которых отличались в группах больных с наличием и отсутствием ДР. В комбинациях, ассоциированных с ДР со специфичностью >99%, наиболее часто выявлялся гомозиготный генотип GG в позиции -174 гена *IL6* (rs1800795), генотип CT в позиции -31 гена *IL1B* (rs1143627), генотип CC в позиции -592 гена *IL10* (rs1800872), генотип CT в позиции -590 гена *IL4* (rs2243250). Высокие уровни HbA_{1c} (>9,8%) были ассоциированы с комбинациями генотипа CA в позиции -863 *TNFA* (rs1800630) и с гомозиготными вариантами GG в позициях -238 и -308 *TNFA* (rs1800629, rs361525).

✉ Шевченко Алла Владимировна, e-mail: shalla64@mail.ru.

Заключение. В составе генетических комбинаций, ассоциированных с ДР у больных СД 2 типа, присутствует большое число гомозиготных вариантов в полиморфных позициях промоторов генов *IL6* (rs1800795), *IL1B* (rs1143627), *TNFA* (rs1800630, rs1800629, rs361525), продукты которых вовлечены в регуляцию воспаления и ангиогенеза. Сочетание определенных вариантов генов цитокинов с высоким уровнем HbA_{1c} может являться важным механизмом реализации индивидуальной генетической предрасположенности к развитию ДР.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая ретинопатия, полиморфизм генов, цитокины, гликированный гемоглобин.

Стремительное увеличение количества больных сахарным диабетом (СД) определяет значимость диабетической ретинопатии (ДР) как одной из ведущих причин слепоты [1]. Важную роль в развитии ДР и других сосудистых осложнений СД играет хроническое низкоинтенсивное воспаление и нарушения ангиогенеза [2–4]. В основе данных процессов лежат сложные нарушения синтеза и взаимодействий ростовых факторов, в числе которых фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), фактор роста фибробластов (bFGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 (MCP-1), фактор роста пигментного эпителия (PEDF), трансформирующий ростовой фактор β (TGF- β) и др. [5]. Определенный вклад в патогенез ДР вносит дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными, проангиогенными и антиангиогенными цитокинами [4].

Полиморфизм генов цитокинов обеспечивает как качественные различия в структуре кодируемых ими молекул, так и количественные различия в уровне продукции регуляторных факторов клетками пациентов с различным генотипом. Последнее направление в настоящее время активно развивается и анализируется в рамках исследования локусов количественных признаков (QTL) [6, 7]. Существует несколько механизмов функциональности генов цитокинов, связанных с однонуклеотидным полиморфизмом (single nucleotide polymorphism, SNP), включая: изменения аминокислот (IL-6R, IL-13, IL-1 α), пропускание экзонов (IL-7R α), проксимальные промоторные варианты (IL-1 β , IL-R α , IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, TNF, IFN- γ TGF- β), варианты дистального промотора (IL-6, IL-18) и интронные энхансерные варианты (IL-8) [8]. Такой высокий уровень многокомпонентности исследуемой регуляторной сети делает затруднительной интерпретацию результатов исследования роли отдельных генов, отдельных цитокинов и отдельных полиморфизмов в

патогенезе ДР и заставляет искать новые подходы к комплексному генетическому исследованию [9].

Исходя из этого, целью исследования стал анализ частоты встречаемости комплексных генетических признаков, включающих в себя функционально значимые SNPs в регуляторных участках генов цитокинов, у пациентов с СД 2 типа с наличием и отсутствием ДР.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пациенты. В исследование включен 201 пациент с СД 2 типа, в том числе 156 женщин и 45 мужчин, европеоидного происхождения, считающих себя и своих родителей русскими. Критериями исключения являлись: кетоацидоз в анамнезе и (или) наличие других клинических или лабораторных признаков СД 1 типа; признаки других специфических типов СД; пролиферативная ДР; хроническая болезнь почек 4- или 5-й стадий; лечение локальными или системными ингибиторами ангиогенеза в течение 3 мес перед исследованием.

Возраст обследованных 42–70 лет (медиана – 63 года). Большинство обследованных имели ожирение (155 человек); избыточная масса тела зафиксирована у 35 пациентов. В постменопаузе находились 42 женщины. Сахароснижающая терапия включала: инсулины ($n = 110$), метформин ($n = 88$), препараты сульфонилмочевины ($n = 36$), ингибиторы дипептидилпептидазы 4 типа ($n = 10$), в большинстве случаев – в виде комбинаций ($n = 89$). Уровень гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) варьировал в пределах 4,9–16,8% (медиана 8,4%). У большинства обследованных выявлены сосудистые осложнения и коморбидные состояния: артериальная гипертензия ($n = 193$), хроническая болезнь почек 1–3-й стадий ($n = 118$), ишемическая болезнь сердца ($n = 76$), макроангиопатия нижних конечностей ($n = 30$). Дислипидемия зафиксирована у 121 пациента, статины в постоянном режиме получали 60 больных, два пациента получали сочетанную гиполипидемическую терапию (статины и фенофибрат).

Все пациенты прошли офтальмологическое обследование в Новосибирском филиале МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. Комплекс стандартного офтальмологического обследования включал определение остроты зрения, офтальмоскопию с широким зрачком, тонометрию, биомикроскопию. По показаниям выполнялась флуоресцентная ангиография сетчатки, оптическая когерентная томография. По результатам обследования больные были разделены на две группы: без признаков ДР (группа ДР-, 111 человек), с ДР (группа ДР+, 90 человек, в том числе 78 с непролиферативной ДР, 12 – с препролиферативной).

Генотипирование. Исследовались восемь SNPs в промоторных регионах генов фактора некроза опухолей- α TNFA: -238 A/G (rs361525), -308 A/G (rs1800629) и -863 C/A (rs1800630); интерлейкина-1 β IL1B: -31 C/T (rs1143627), интерлейкина-4 IL4: -590 C/T (rs2243250), интерлейкина-6: IL6 -174 C/G (rs1800795), интерлейкина-10 IL10: -592 C/A (rs1800872) и -1082 A/G (rs1800872). Исследование 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 (компания «ДНК-Технология») согласно инструкции фирм-производителей.

Статистический анализ. При статистическом анализе результатов генетических исследований рассчитывали частоту встречаемости аллелей, генотипов и их комбинаций, отношение шансов (OR) и его 95%-й доверительный интервал (OR95%CI), специфичность (Sp). Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга. Достоверность различий частот распределения изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по критерию χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность и двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц. Для описания количественных переменных использовались стандартные параметрические и непараметрические методы анализа с вычислением среднего значения, доверительного интервала среднего с уровнем вероятности 95%, дисперсии и стандартного отклонения, асимметрии и эксцесса распределений, медианы Me , значений верхнего и нижнего квартилей.

Математическую обработку связи генетических признаков с количественным содержанием HbA_{1c} (оптимальная концентрация, ее высокие

или низкие значения) проводили в соответствии с методическими и аналитическими подходами квартильного анализа. При данном подходе диапазон оптимума ограничивается значениями квартилей p_{25} и p_{75} . В качестве параметров повышенной концентрации показателей принимаются диапазоны выше p_{75} , а сниженной – ниже p_{25} . Визуализацию попарных ген-генных и ген-белковых (HbA_{1c}) взаимодействий в группах с наличием и отсутствием ДР в виде интерактивной биологической сети осуществляли в программе Cytoscape v.3.5.1 [10]. Интерпретация результатов визуализации осуществлялась на основе общих глобальных и локальных топологических свойств биологических сетей [11].

Статистическая обработка проводилась с помощью специализированных пакетов прикладных программ StatSoft Statistica 10.0, IBM SPSS Statistics 19 и пакета оригинальных программ объемной обработки биоинформации, включая многокомпонентный генетический анализ, на основе методов комбинаторики в теории вероятности [12, 13]. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клиническая характеристика больных с наличием и отсутствием ДР представлена в табл. 1. Выделенные группы не различались между собой по возрасту, индексу массы тела (ИМТ), уровням HbA_{1c} , холестерина липопротеинов низкой и высокой плотности (ЛПНП и ЛПВП), общего холестерина и триацилглицеролов. Длительность СД и уровень HbA_{1c} ожидаемо оказались больше, а скорость клубочковой фильтрации (СКФ) – меньше у пациентов с ДР.

При сопоставлении частот комбинаций генотипов исследованных цитокинов у больных СД 2 типа (табл. 2) выявлено 36 генетических признаков, частоты которых отличались в группах с наличием и отсутствием ДР. Частота 27 из них оказалась повышенной среди пациентов с ДР, а частота 9 – сниженной.

Как следует из табл. 2, около половины генетических признаков, частота которых была повышена среди больных с ДР, либо полностью отсутствовали у пациентов без ДР, либо встречались с частотой менее 1%. Среди этих признаков у больных с ДР наиболее часто (84,6%) выявлялся гомозиготный вариант GG гена *IL6* в полиморфной позиции -174; в 65,4% случаев – гетерозиготный вариант СТ в позиции -31 гена *IL1B* и гомо-

зиготный вариант СС гена *IL10* в позиции -592, в 53,8% случаев выявлялся гетерозиготный вариант СТ в позиции -590 промотора гена *IL4*; несколько реже встречались генотипы в полиморфных участках в позициях -238, -308 и -863 *TNFA*. Среди больных без ДР с наибольшей частотой

встречались гетерозиготные варианты гена *IL10* в полиморфной позиции -1082, гетерозиготные варианты GC гена *IL6* в позиции -174, гомозиготные варианты GG гена *TNFA* в позициях -238 и -308, а также гомозиготный вариант СС того же гена в полиморфной позиции -863.

Т а б л и ц а 1

Клиническая характеристика больных СД 2 типа с наличием и отсутствием ДР, Ме (p25; p75)

Признак	Группа больных		p
	ДР+ (n = 90)	ДР- (n = 111)	
Возраст, годы	62 (57,5; 67)	63 (55; 67)	0,6
Длительность СД, годы	14 (11; 19)	11 (6; 16)	0,0002
ИМТ, кг/м ²	34,1 (32; 37,9)	33,3 (29,4; 38,7)	0,6
НbA _{1c} , %	8,8 (8; 10,2)	7,8 (6,6; 9,5)	0,0004
Холестерол ЛПНП, ммоль/л	2,7 (2,2; 3,7)	3,1 (2,4; 3,9)	0,2
Холестерол ЛПВП, ммоль/л	1,2 (1,0; 1,4)	1,2 (1,0; 1,5)	0,4
Холестерол общий, ммоль/л	4,9 (4,4; 5,8)	5,1 (4,4; 5,9)	0,1
Триацилглицеролы, ммоль/л	1,7 (1,2; 2,7)	1,7 (1,3; 2,6)	0,4
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	64 (52; 80)	71 (60; 85)	0,002

Т а б л и ц а 2

Частоты комбинаций генотипов цитокинов у больных СД 2 типа с наличием и отсутствием ДР

Комбинации генов	Генотипы	Частота комбинаций генотипов, %		OR	OR95%CI	Sp
		ДР+ (n = 90)	ДР- (n = 111)			
<i>IL1B-31:IL4-590:IL6-174:IL10-592</i>	TC-CT-GG-CC	8,89	0,00	22,98	1,31-403,76	100,00
<i>TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL6-174</i>	GG-TC-CT-GG	7,78	0,00	20,03	1,13-355,67	100,00
<i>TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	CC-GG-TC-GG-CC	7,78	0,00	20,03	1,13-355,67	100,00
<i>TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL6-174:IL10-592</i>	GG-TC-CT-GG-CC	7,78	0,00	20,03	1,13-355,67	100,00
<i>IL1B-31:IL4-590:IL6-174</i>	TC-CT-GG	11,11	0,90	13,75	1,73-109,59	99,10
<i>TNF-863:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	CC-TC-GG-CC	11,11	0,90	13,75	1,73-109,59	99,10
<i>TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	GG-TC-GG-CC	10,00	0,90	12,22	1,52-98,41	99,10
<i>TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	CC-GG-TC-GG-CC	10,00	0,90	12,22	1,52-98,41	99,10
<i>TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL6-174</i>	GG-TC-CT-GG	8,89	0,90	10,73	1,32-87,50	99,10
<i>TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	GG-GG-TC-GG-CC	8,89	0,90	10,73	1,32-87,50	99,10
<i>TNF-863:IL1B-31:IL4-590:IL6-174</i>	CC-TC-CT-GG	7,78	0,90	9,28	1,12-76,87	99,10
<i>IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	TC-GG-CC	14,44	2,70	6,08	1,67-22,06	97,30
<i>TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-592</i>	GG-TC-GG-CC	13,33	2,70	5,54	1,51-20,29	97,30
<i>IL1B-31:IL4-590:IL10-1082:IL10-592</i>	TC-CT-GG-CC	8,89	1,80	5,32	1,10-25,71	98,20
<i>IL1B-31:IL4-590:IL10-1082</i>	TC-CT-GG	11,11	2,70	4,50	1,20-16,88	97,30
<i>IL4-590:IL6-174:IL10-592</i>	CT-GG-CC	13,33	3,60	4,12	1,28-13,24	96,40
<i>TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL10-1082</i>	GG-TC-CT-GG	10,00	2,70	4,00	1,05-15,25	97,30
<i>TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL10-1082</i>	GG-TC-CT-GG	10,00	2,70	4,00	1,05-15,25	97,30
<i>TNF-308:IL4-590:IL6-174</i>	GG-CT-GG	12,22	3,60	3,72	1,14-12,13	96,40
<i>TNF-238:IL4-590:IL6-174:IL10-592</i>	GG-CT-GG-CC	12,22	3,60	3,72	1,14-12,13	96,40
<i>TNF-308:IL6-174:IL10-592</i>	GG-GG-CC	21,11	8,11	3,03	1,30-7,09	91,89

Комбинации генов	Генотипы	Частота комбинаций генотипов, %		OR	OR95%CI	Sp
		ΔP+ (n = 90)	ΔP- (n = 111)			
<i>IL4-590:IL6-174</i>	CT-GG	16,67	6,31	2,97	1,15–7,65	93,69
<i>TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592</i>	GG-GG-GG-CC	20,00	8,11	2,83	1,20–6,66	91,89
<i>IL6-174:IL10-592</i>	GG-CC	27,78	12,61	2,66	1,29–5,51	87,39
<i>TNF-238:IL6-174:IL10-592</i>	GG-GG-CC	26,67	12,61	2,52	1,21–5,23	87,39
<i>TNF-863:IL6-174:IL10-592</i>	CC-GG-CC	20,00	9,91	2,27	1,01–5,10	90,09
<i>TNF-238:IL10-1082:IL10-592</i>	GG-AG-CA	7,78	18,02	0,38	0,15–0,95	92,22
<i>TNF-863:IL4-590:IL6-174</i>	CC-CT-GC	7,78	18,92	0,36	0,15–0,89	92,22
<i>TNF-863:TNF-308:IL4-590:IL6-174</i>	CC-GG-CT-GC	6,67	17,12	0,35	0,13–0,91	93,33
<i>TNF-863:IL1B-31</i>	CA-TT	4,44	13,51	0,30	0,10–0,93	95,56
<i>IL4-590:IL10-1082:IL10-592</i>	CC-AG-CA	4,44	13,51	0,30	0,10–0,93	95,56
<i>TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL10-1082</i>	GG-GG-TC-GC-AG	3,33	11,71	0,26	0,07–0,94	96,67
<i>TNF-308:IL4-590:IL10-1082:IL10-592</i>	GG-CC-AG-CA	2,22	9,91	0,21	0,04–0,96	97,78
<i>TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL6-174</i>	CC-GG-TC-CT-GC	2,22	9,91	0,21	0,04–0,96	97,78
<i>TNF-238:IL4-590:IL10-1082:IL10-592</i>	GG-CC-AG-CA	2,22	11,71	0,17	0,04–0,78	97,78

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 3 достоверность различий оценивалась по двустороннему критерию Фишера.

Анализ ассоциированности уровня HbA_{1c} с комбинированными генотипами показал, что в группе с наиболее высокими значениями показателя (выше 75-го квартиля, >9,8%) преобладали

генотипы, включающие в свой состав гетерозиготный вариант CA гена *TNFA* в позиции -863, в сочетании с гомозиготными вариантами GG этого же гена, но в позициях -238 и -308 (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

Частоты комбинаций генотипов цитокинов среди больных СД 2 типа с высоким и низким уровнем HbA_{1c}					
Комбинации генов	Генотипы	Уровень HbA_{1c}		OR	OR95%CL
		>9,8%	<7,3%		
<i>TNF-863:IL10-592</i>	CA-CC	21,28	2,13	12,43	1,52–101,60
<i>TNF-863:TNF-308:IL10-592</i>	CA-GG-CC	21,28	2,13	12,43	1,52–101,60
<i>TNF-863:IL10-1082</i>	CA-GG	19,15	2,13	10,89	1,32–89,88
<i>TNF-863:TNF-238:IL10-592</i>	CA-GG-CC	19,15	2,13	10,89	1,32–89,88
<i>TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-592</i>	CA-GG-GG-CC	19,15	2,13	10,89	1,32–89,88
<i>TNF-863:TNF-308:IL10-1082</i>	CA-GG-GG	17,02	2,13	9,44	1,13–78,79
<i>TNF-863:TNF-238:IL10-1082</i>	CA-GG-GG	17,02	2,13	9,44	1,13–78,79
<i>TNF-863:IL6-174:IL10-592</i>	CA-GC-CC	17,02	2,13	9,44	1,13–78,79
<i>TNF-863:TNF-308:IL6-174:IL10-592</i>	CA-GG-GC-CC	17,02	2,13	9,44	1,13–78,79
<i>TNF-863:IL6-174</i>	CA-GC	23,40	6,38	4,48	1,16–17,30
<i>TNF-863</i>	CA	36,17	12,77	3,87	1,36–10,99
<i>TNF-863:TNF-238</i>	CA-GG	34,04	12,77	3,53	1,24–10,06
<i>TNF-863:TNF-308</i>	CA-GG	31,91	12,77	3,20	1,12–9,19
<i>TNF-863:TNF-308:TNF-238</i>	CC-GG-GG	31,91	55,32	0,38	0,16–0,88

На следующем этапе нами проведено исследование попарных ген-генных и ген-белковых (генотипы- HbA_{1c}) взаимодействий в группах больных с наличием и отсутствием ΔP и выполнена визуализация этих взаимодействий в виде совмещенной биологической сети с помощью програм-

мы Cytoscape. Построенная сеть имела двухмодульное строение с тремя «хабами», отчетливо проявляющимися в виде вершин, представленными HbA_{1c} с большим количеством малоперекрывающихся взаимодействий с полиморфизмами различных генов цитокинов (рис.). Первый

модуль характеризует статистически значимую связь высоких и средних уровней HbA_{1c} (соответственно HbA_{1c} -ЛН и HbA_{1c} -НН) с определенными генотипами провоспалительных цитокинов. Такая структура сети оказалась характерной для пациентов с ДР. Второй модуль характеризуется присутствием одного «хаба» (HbA_{1c} -ЛЛ), характерной особенностью которого оказалась связь белковой вершины с определенными генотипами большинства исследованных противовоспалительных цитокинов, взаимодействия с которыми отсутствуют в первом модуле. Такая структура сети оказалась характерной для больных СД 2 типа с отсутствием ДР.

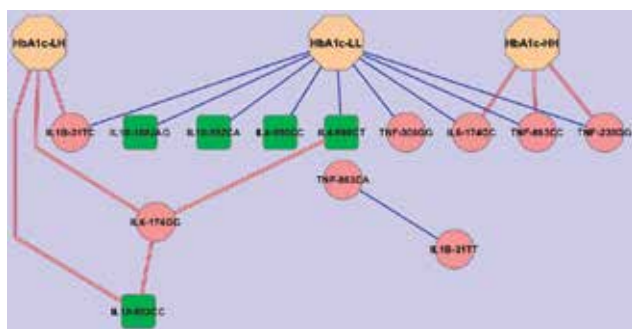


Рисунок. Совмещенная генно-белковая сеть цитокинов и HbA_{1c} при СД 2 типа с ДР (двойная красная линия) и без ДР (одинарная синяя линия): отчетливо выявляются три «хаба» (желтые восьмиугольники), образованные за счет многочисленных связей разных концентраций HbA_{1c} , сгруппированных в альтернативные диапазоны (HbA_{1c} -ЛЛ, HbA_{1c} -ЛН и HbA_{1c} -НН, соответственно, низкие (<7,3%), средние (7,3–9,8%) и высокие (>9,8%) уровни), с различными полиморфизмами провоспалительных (красные круги) и противовоспалительных (зеленые квадраты) цитокинов

Figure. Combined gene-protein network of cytokines and HbA_{1c} in type 2 diabetes with DR (double red line) and without DR (single blue line: three “hubs” (yellow octagons) formed due to numerous connections of different HbA_{1c} concentrations grouped into alternative ranges (HbA_{1c} -LL, HbA_{1c} -LH and HbA_{1c} -HH, respectively, low (<7,3%), medium (7,3–9,8%) and high (>9,8%) levels), with different polymorphisms of pro-inflammatory (red circles) and anti-inflammatory (green squares) cytokines

ОБСУЖДЕНИЕ

К настоящему моменту накоплены данные об ассоциированности ДР с полиморфизмами целого ряда генов. Белковые продукты ряда этих генов участвуют в регуляции активности воспаления и ангиогенеза. В частности, выявлена ассоциация ДР с полиморфизмом Pro12Ala в гене, кодирующем рецептор, активируемый пролифератором пероксисом (PPAR γ) – ядерный транскрипционный фактор, участвующий в дифференцировке адипоцитов, метаболизме глюкозы и

липидов и транспорте жирных кислот [14]. Изучены ассоциации с ДР генов ангиотензин-превращающего фермента (*ACE*), рецептора ангиотензина 2 (*AGTR*), альдозоредуктазы (*AR*), фактора Н комплемента (*CFH*), эндотелиальной синтазы оксида азота (*ENOS*), эритропоэтина (*EPO*), А/В интегрина (*ITGA/B*), эндотелиальной липазы (*EL*), метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*), остеопротегерина (*OPG*), рецептора конечных продуктов гликирования (*RAGE*), селектина Р (*SELP*), транскрипционного фактора 7L2 (*TCF7L2*), разобщающего белка (*UCP*) и *VEGFA*. Некоторые факторы из этого перечня избирательно ассоциируются с пролиферативной и непролиферативной формой ДР [15]. В ряде работ изучались ассоциации полиморфизма промоторных участков генов цитокинов *IL6*, *IL10*, *TNFA* с развитием ДР. Однако их результаты, полученные при исследовании отличных по происхождению от русских кавказоидов индийцев и бразильцев, трудно сопоставить с полученными нами данными [16, 17].

Ранее в исследованиях в русской популяции нами показано, что больные СД 2 типа отличаются от общей популяции по частоте встречаемости комбинированных генетических признаков, включающих варианты генотипов цитокинов (*VEGF*, *IL1B*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *TNFA*), регулирующих воспаление и ангиогенез [18]. У больных СД 2 типа выявлены связи между полиморфными вариантами промоторов указанных генов с уровнем цитокинов в крови и наличием ишемической болезни сердца [19–22]. В данном исследовании нами идентифицированы комбинации генов промоторных областей цитокинов (*IL1B*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *TNFA*), ассоциированные с ДР у больных СД 2 типа.

При анализе результатов обращает внимание необычно высокая частота гомозиготных вариантов в промоторах генов провоспалительных цитокинов (*IL1B*, *IL6* и *TNFA*) в составе генетических комбинаций, ассоциированных с ДР. Данные литературы свидетельствуют о связи аллелей в полиморфных участках промоторных регионов цитокинов с уровнем продукции кодируемых этими генами белковых молекул [7, 19, 20, 23]. Так, выявленный нами с высокой частотой у пациентов с ДР генотип GG гена *IL6* в полиморфной позиции -174 способствует высокой продукции IL-6 лимфоидными и макрофагальными клетками [24]. Поскольку IL-6 обладает выраженным провоспалительным и проангиогенным эффектами, конституционально повышенный уровень его продукции у носителей генотипа GG

может способствовать ускоренному формированию ДР.

Хорошо известно, что формирование ДР – результат сложного взаимодействия генетических, метаболических и гемодинамических факторов [25]. Генетические факторы при этом объясняют 25–50% риска развития ДР [26]. Вместе с тем эффективность контроля гликемии остается важнейшим предиктором возникновения и прогрессирования данного осложнения [1]. Общими факторами реализации эффекта гипергликемии на сосудистую стенку являются и хроническое воспаление, и нарушения ангиогенеза [2, 4]. В данной работе нами проведено компьютерное моделирование связей генотипов цитокинов, вовлеченных в регуляцию воспаления и ангиогенеза, и уровней HbA_{1c} – интегрального маркера гипергликемии, выявившее особенности комбинаций генов цитокинов у пациентов с высоким и относительно низким уровнем HbA_{1c} . Результаты исследования показывают, что платформа Cytoscape, как одна из наиболее популярных среди биоинформатиков программ для анализа и визуализации биологических сетей позволяет строить и изучать генные и белковые взаимодействия применительно к исследованию патогенеза осложнений СД 2 типа для разработки в последующем подходов к персонализированной профилактики и терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В составе генетических комбинаций, ассоциированных с ДР у больных СД 2 типа, присутствует большое число гомозиготных вариантов в полиморфных позициях промоторов генов *IL6* (rs1800795), *IL1B* (rs1143627), *TNFA* (rs1800630, rs1800629, rs361525), продукты которых вовлечены в регуляцию воспаления и ангиогенеза. Сочетание определенных вариантов этих генов с высоким уровнем HbA_{1c} может являться важным механизмом реализации индивидуальной генетической предрасположенности к развитию ДР.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Коненков В.И. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи. Шевченко А.В. – генотипирование. Прокофьев В.Ф. – статистическая обработка данных. Климонтов В.В. –

разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи. Тянь Н.В. – подбор и клиническое обследование пациентов. Черных В.В. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания. Черных Д.В. – офтальмологическое обследование пациентов, анализ и интерпретация данных. Еремина А.В. – офтальмологическое обследование пациентов, анализ и интерпретация данных. Трунов А.Н. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств государственного задания НИИКЭЛ, а также в рамках договора о научно-практическом сотрудничестве между НИИКЭЛ и МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено этическими комитетами НИИКЭЛ (протокол № 104 от 20.10.2014) и Новосибирского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова (протокол № 3 от 04 сентября 2014 г.). У всех пациентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании, забор крови, а также использование данных исследования в научных целях.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sabanayagam C., Yip W., Ting D.S., Tan G., Wong T.Y. Ten Emerging Trends in the Epidemiology of Diabetic Retinopathy // *Ophthalmic Epidemiol.* 2016; 23 (4): 209–222. DOI: 10.1080/09286586.2016.1193618.
2. Климонтов В.В., Тянь Н.В., Фазуллина О.Н., Мьякина Н.Е., Лыков А.П., Коненков В.И. Клинические и метаболические факторы, ассоциированные с хроническим воспалением низкой интенсивности, у больных сахарным диабетом 2 типа // *Сахарный диабет.* 2016; 19 (4): 295–301. DOI: 10.14341/DM7928.
3. Klimontov V.V., Tyann N.V., Fazullina O.N., Myakina N.E., Lykov A.P., Konenkov V.I. Klinicheskiye i metabolicheskiye faktory, assotsiirovannyye s khronicheskim vospaleniym nizkoy intensivnosti, u bol'nykh sakharnym diabetom 2 tipa [Clinical and metabolic factors associated with chronic low-grade inflammation in type 2 diabetic patients] // *Sakharnyy Diabet – Diabetes Mellitus.* 2016; 19 (4): 295–302 (in Russian). DOI: 10.14341/DM7928.
4. Коненков В.И., Климонтов В.В., Мьякина Н.Е., Тянь Н.В., Фазуллина О.Н., Романов В.В. Повышенная концентрация воспалительных цитокинов в сыворотке крови

- у больных сахарным диабетом 2-го типа с хронической болезнью почек // *Терапевтический архив*. 2015; 87 (6): 45–49. DOI: 10.17116/terarkh201587645-49.
- Konenkov V.I., Klimontov V.V., Myakina N.E., Tyan N.V., Fazullina O.N., Romanov V.V. Povyshennaya kontsentratsiya vospalitel'nykh tsitokinov v syvorotke krovi u bol'nykh sakharnym diabetom 2-go tipa s khronicheskoy bolezn'yu pochek [Increased serum concentrations of inflammatory cytokines in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease] // *Terapevticheskiy Arkhiv – Ter Arkh*. 2015; 87 (6): 45–49 (in Russian). DOI: 10.17116/terarkh201587645-49.
4. Коненков В.И., Климонтов В.В. Ангиогенез и васкулогенез при сахарном диабете: новые концепции патогенеза и лечения сосудистых заболеваний // *Сахарный диабет*. 2012; 15 (4): 17–27. DOI: 10.14341/2072-0351-5533.
- Konenkov V.I., Klimontov V.V. Angiogenez i vaskulogenez pri sakharnom diabete: novyye kontseptsii patogeneza i lecheniya sosudistyykh oslozhneniy [Vasculogenesis and angiogenesis in diabetes mellitus: Novel pathogenetic concepts for treatment of vascular complications] // *Sakhar-nyy Diabet – Diabetes Mellitus*. 2012; 15 (4): 17–27 (in Russian). DOI: 10.14341/2072-0351-5533.
5. Tarr J.M., Kaul K., Chopra M., Kohner E.M., Chibber R. Pathophysiology of diabetic retinopathy // *ISRN Ophthalmol*. 2013; 2013: 343–560. DOI: 10.1155/2013/343560.
6. McClay J.L., Shabalin A.A., Dozmorov M.G., Adkins D.E., Kumar G., Nerella S., Clark S.L., Bergen S.E.; Swedish Schizophrenia Consortium, Hultman C.M., Magnusson P.K., Sullivan P.F., Aberg K.A., van den Oord E.J. High density methylation QTL analysis in human blood via next-generation sequencing of the methylated genomic DNA fraction // *Genome Biology*. 2015; 16: 291. DOI: 10.1186/s13059-015-0842-7.
7. 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- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 и IL-10 у здоровых лиц европейского населения России // *Иммунология*. 2016; 37 (5): 232–238. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-5-232-238.
- Shevchenko A.V., Konenkov V.I., Prokofiev V.F., Poveschenko O.V., Lykov A.P., Bondarenko N.A., Kim I.I. Konstitutsional'nyye osnovy urovney spontannoy i indutsirovannoy produktsii tsitokinov TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 i IL-10 u zdorovykh lits yevropeidnogo naseleniya Rossii [Constitutional basis of the levels of spontaneous and induced production of cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 and IL-10 in healthy individuals of the european population of Russia] // *Immunologiya – Immunology*. 2016; 37 (5): 232–238 (in Russian). DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-5-232-238.
8. Smith A.J., Humphries S.E. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality // *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009; 20 (1): 43–59. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2008.11.006.
9. Коненков В.И., Повещенко О.В., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В. Анализ информативности клинических, функциональных, лабораторных и генетических показателей оценки состояния пациентов, перенесших инфаркт миокарда, в прогнозе эффективности аутологичной клеточной терапии хронической сердечной недостаточности // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2015; 11 (1): 23–29.
- Konenkov V.I., Poveschenko O.V., Prokofiev V.F., Shevchenko A.V. Analiz informativnosti klinicheskikh, funktsional'nykh, laboratornykh i geneticheskikh pokazateley otsenki sostoyaniya patsiyentov, perenessikh infarkt miokarda, v prognoze effektivnosti autologichnoy kletochnoy terapii khronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti [The analysis of clinical, functional, laboratory and genetic parameters values on the condition of patients after myocardial infarction, and prognosis of intramyocardial autologous cell therapy effectiveness for chronic heart failure] // *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika – Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2015; 11 (1): 23–29 (in Russian).
10. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks // *Genome Res*. 2003; 13 (11): 2498–2504. DOI: 10.1101/gr.1239303.
11. Csermely P., Korcsmáros T., Kiss H.J., London G., Nussinov R. Structure and dynamics of molecular networks: a novel paradigm of drug discovery: a comprehensive review // *Pharmacol. Ther.* 2013; 138 (3): 333–408. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.01.016.
12. Бююль А., Цёфель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. СПб: ДиаСофтЮп, 2005: 603.
- Byuyul' A., Tsofel' P. SPSS: iskusstvo obrabotki informat-sii. Analiz statisticheskikh dannykh i vosstanovleniye skrytykh zakonornostey [SPSS: the art of information processing. Analysis of statistical data and the restoration of hidden patterns]. Saint-Petersburg: DiaSoftYup Publ., 2005: 603 (in Russian).
13. Шахмейстер А.Х. Комбинаторика. Статистика. Вероятность. М.: МЦНМО, 2010: 296.
- Shakhmeyster A.Kh. Kombinatorika. Statistika. Veroyatnost' [Combinatorics. Statistics. Probability]. Moscow: MT: MTSNMO Publ., 2010: 296 (in Russian).
14. Ma J., Li Y., Zhou F., Xu X., Guo G., Qu Y.. Meta-analysis of association between the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 gene and diabetic retinopathy in Caucasians and Asians // *Mol. Vis*. 2012; 18: 2352–2360.
15. Agarwal A., Soliman M.K., Sepah Y.J., Do D., Nguyen Q.D. Diabetic retinopathy: variations in patient therapeutic outcomes and pharmacogenomics // *Pharmacogenomics Pers. Med*. 2014; 7: 399–409. DOI: 10.2147/PGPM.S52821.

16. Rodrigues K.F., Pietrani N.T., Sandrim V.C. Association of a large panel of cytokine gene polymorphisms with complications and comorbidities in type 2 diabetes patients // *J. Diabetes. Res.* 2015; 2015: 605965. DOI: 10.1155/2015/605965.
17. Paine S.K., Sen A., Choudhuri S. Association of tumor necrosis factor α , interleukin 6, and interleukin 10 promoter polymorphism with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetic subjects // *Retina.* 2012; 32 (6): 1197–1203. DOI: 10.1097/IAE.0b013e31822f55f3.
18. Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Климонтов В.В., Королев М.А., Фазулина О.Н., Лапсина С.А., Королева Е.А. Ассоциации вариантов гена фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) и генов цитокинов (IL1B, IL4, IL6, IL10, TNFA) с сахарным диабетом 2 типа у женщин // *Сахарный диабет.* 2012; 15 (3): 4–10. DOI: org/10.14341/2072-0351-6079.
- Konenkov V.I., Shevchenko A.V., Prokofyev V.F., Klimontov V.V., Korolev M.A., Fazullina O.N., Lapsina S.A., Koroleva Ye.A. Assotsiatsii variantov gena faktora rosta sosudistogo endoteliya (VEGF) i genov tsitokinov (IL1V, IL4, IL6, IL10, TNFA) s sakharnym diabetom 2 tipa u zhenshchin [Associations of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene and cytokine (IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, TNFA) genes combinations with type 2 diabetes mellitus in women] // *Sakharnyy Diabet – Diabetes Mellitus.* 2012; 15 (3): 4–10 (in Russian). DOI: org/10.14341/2072-0351-6079.
19. Tyan N.V., Klimontov V.V., Shevchenko A.V., Fazullina O.N., Orlov N.B., Konenkov V.I. Polymorphisms in the gene promoters of IL4, IL6, IL10 and TNFA associated with serum levels of cytokines in type 2 diabetic subjects // *Diabetologia.* 2016; 59 (S1): 513.
20. Климонтов В.В., Тянь Н.В., Шевченко А.В., Фазулина О.Н., Орлов Н.Б., Коненков В.И. Полиморфизмы промоторов генов IL4, IL6, IL10 и TNFA взаимосвязаны с уровнем цитокинов в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа // *Цитокины и воспаление.* 2016; 15 (2): 186–191.
- Klimontov V.V., Tyan N.V., Shevchenko A.V., Fazullina O.N., Orlov N.B., Konenkov V.I. Polimorfizmy promotorov genov IL4, IL6, IL10 i TNFA vzaimosvyazany s urovnem tsitokinov v syvorotke krovi u bol'nykh sakharnym diabetom 2 tipa [Polymorphisms in IL4, IL6, IL10 and TNFA gene promoters are related to serum levels of cytokines in type 2 diabetic patients] // *Tsitokiny i vospaleniye – Cytokines Inflammation.* 2016; 15 (2): 186–191 (in Russian).
21. Klimontov V.V., Shevchenko A.V., Tyan N.V. Serum levels and genetic variants of inflammatory cytokines are associated with coronary artery disease in type 2 diabetic subjects // *Diabetes.* 2016; 65: 113–114.
22. Климонтов В.В., Тянь Н.В., Орлов Н.Б., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Мякина Н.Е., Булумбаева Д.М., Коненков В.И. Взаимосвязь уровня фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови и полиморфизма гена VEGFA с ишемической болезнью сердца у больных сахарным диабетом 2 типа // *Кардиология.* 2017; 57 (5): 17–22. DOI: 10.18565/cardio.2017.5.17-22.
- Klimontov V.V., Tyan N.V., Orlov N.B., Shevchenko A.V., Prokofyev V.F., Myakina N.Ye., Bulumbayeva D.M., Konenkov V.I. Vzaimosvyaz' urovnya faktora rosta endoteliya sosudov v syvorotke krovi i polimorfizma gena VEGFA s ishemicheskoy bolezn'yu serdtsa [Polymorphisms in the genes of cytokines and matrix metalloproteinases, associated with coronary artery disease, in type 2 diabetic patients] // *Kardiologiya – Kardiologiya.* 2017; 57 (5): 17–22 (in Russian). DOI: 10.18565/cardio.2017.5.17-22.
23. Warlé M.C., Farhan A., Metselaar H.J., Hop W.C.J., Perrey C., Zondervan P.E., Kap M., Kwekkeboom J., Ijzermans J.N.M., Tilanus H.W. Are cytokine gene polymorphisms related to in vitro cytokine production profiles // *Liver Transplant.* 2003; 9 (2): 170–181. DOI: 10.1053/jlts.2002.50014.
24. Zhao K., Xu J., Tian H. Correlation analysis between an IL-6 genetic polymorphism and non-small cell lung cancer prognosis // *Genet. Mol. Res.* 2016; 15 (1): 15017021. DOI: 10.4238/gmr.15017021.
25. Трунов А.Н., Черных Д.В., Еремина А.В., Черных В.В. Цитокины и факторы роста в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии // *Офтальмохирургия.* 2017; (1): 93–97.
- Trunov A.N., Chernykh D.V., Eremin A.V., Chernykh V.V. Citokiny i faktory rosta v patogeneze proliferativnoj diabeticheskoy retinopatii [Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Proliferative Diabetic Retinopathy] // *Oftal'mobiruriya – Ophthalmosurgery.* 2017; (1): 93–97 (in Russian).
26. Simó-Servat O., Hernández C., Simó R. Genetics in Diabetic Retinopathy: Current Concepts and New Insights // *Current Genomics.* 2013; 14 (5): 289–299. DOI: 10.2174/13892029113149990008.

Поступила в редакцию 17.07.2017
Утверждена к печати 08.11.2017

Коненков Владимир Иосифович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. лабораторией клинической иммуногенетики, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Шевченко Алла Владимировна, д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинической иммуногенетики, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Прокофьев Виктор Федорович, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинической иммуногенетики, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Климонтон Вадим Валерьевич, д-р мед. наук, профессор РАН, зав. лабораторией эндокринологии, заместитель руководителя филиала по научной работе, НИИКЭД, г. Новосибирск.

Тян Надежда Викторовна, мл. науч. сотрудник, лаборатории эндокринологии, НИИКЭД, г. Новосибирск.

Черных Валерий Вячеславович, д-р мед. наук, профессор, директор МНТК «Микрохирургия глаза», Новосибирский филиал, г. Новосибирск.

Черных Дмитрий Валерьевич, канд. мед. наук, врач-офтальмолог, МНТК «Микрохирургия глаза», Новосибирский филиал, г. Новосибирск.

Еремина Алена Викторовна, науч. сотрудник, врач-офтальмолог, МНТК «Микрохирургия глаза», Новосибирский филиал, г. Новосибирск.

Трунов Александр Николаевич, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе МНТК «Микрохирургия глаза», Новосибирский филиал, г. Новосибирск.

✉ Шевченко Алла Владимировна, e-mail: shalla64@mail.ru.

УДК 616.379-008.646:575.174.015.3

DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-173-183

For citation: Konenkov V.I., Shevchenko A.V., Prokofev V.F., Klimontov V.V., Tyan N.V., Chernykh V.V., Chernykh D.V., Eremina A.V., Trunov A.N. Combinations of polymorphisms in the regulatory regions of cytokine genes are associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (4): 173–183.

Combinations of polymorphisms in the regulatory regions of cytokine genes are associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients

Konenkov V.I.¹, Shevchenko A.V.¹, Prokof'ev V.F.¹, Klimontov V.V.¹, Tyan N.V.¹, Chernykh V.V.², Chernykh D.V.², Eremina A.V.², Trunov A.N.²

¹ *Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
2, Timakov Str., Novosibirsk, 630060, Russian Federation*

² *Novosibirsk Branch of the Academician S.N. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Complex “Eye microsurgery”
10, Kolkhidskaya Str., Novosibirsk, 630096, Russian Federation*

ABSTRACT

Diabetic retinopathy (DR) is one of the leading causes of avoidable blindness worldwide. Chronic low-grade inflammation and abnormal angiogenesis, which is considered to be principal components of DR pathogenesis, is accompanied by imbalance in cytokine production. It was shown that single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the promoters of cytokine genes affect the cytokine production in normal and pathological conditions. Accordingly, **we aimed to** assess the frequencies of combinations of SNPs from promoters of cytokine genes in type 2 diabetic subjects with and without DR.

Materials and methods: We enrolled 201 caucasian subjects with type 2 diabetes, including 90 ones with non-proliferative or preproliferative retinopathy and 111 subjects without DR. Eight SNPs, located in the gene promoters of *TNFA* (rs1800630, rs1800629, rs361525), *IL1B* (rs1143627), *IL4* (rs2243250), *IL6* (rs1800795) and *IL10* (rs1800896, rs1800872), were investigated. In groups of patients with and without DR, the frequencies of alleles, genotypes and their combinations, odds ratios and specificity were calculated. The networks between genes and quartiles of glycated hemoglobin A1c (HbA_{1c}) were visualized with Cytoscape.

Results. We revealed 36 combinations of SNPs with different frequencies in the groups of patients with and without DR. In the combinations associated with DR with a specificity >99% homozygous GG genotype in position -174 of *IL6* (rs1800795), CT genotype in position -31 of *IL1B* (rs1143627), CC genotype in position -592 of *IL10* (rs1800872), CT genotype in position -590 of *IL4* (rs2243250) were the most frequently detected

variants. High levels of HbA_{1c} (>9.8%) were associated with combinations of CA genotype in position -863 *TNFA* (rs1800630) with homozygous variants GG in positions -238 and -308 *TNFA* (rs1800629, rs361525).

Conclusion. Genetic combinations, associated with DR in type 2 diabetic subjects, include homozygous variants in polymorphic positions of the gene promoters of *IL6* (rs1800795), *IL1B* (rs1143627) and *TNFA* (rs1800630, rs1800629, rs361525). The combinations of the variants of cytokine genes with a high level of HbA_{1c} can be an important mechanism for realizing of individual genetic predisposition to the development of DR.

Key words: diabetes, diabetic retinopathy, gene polymorphism, cytokines, glycated hemoglobin.

Received July 17.2017
Accepted November 08.2017

Konenkov Vladimir I., DM, Professor, Academician of Russian Academy of Science, Head of the Laboratory of Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

Shevchenko Alla V., DBSc, Leading Researcher, Laboratory of Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

Prokofev Viktor F., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

Klimontov Vadim V., DM, Professor, Head of the Laboratory of Endocrinology, Deputy Director for Science, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

Tyan Nadezhda V., Junior Researcher, Laboratory of Endocrinology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

Chernykh Valeriy V., DM, Professor, Director, Novosibirsk Branch of the Academician S.N. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Complex “Eye microsurgery”, Novosibirsk, Russian Federation.

Chernykh Dmitriy V., PhD, Ophthalmologist, Novosibirsk Branch of the Academician S.N. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Complex “Eye microsurgery”, Novosibirsk, Russian Federation.

Eremina Alena V., MD, Ophthalmologist, Novosibirsk Branch of the Academician S.N. Fyodorov Federal State Institution “Intersectoral Research and Technology Complex “Eye microsurgery” Ministry of Health of the Russian Federation; Novosibirsk, Russian Federation.

Trunov Aleksandr N., DM, Professor, Deputy Director for Science, Novosibirsk Branch of the Academician S.N. Fyodorov, Intersectoral Research and Technology Complex “Eye microsurgery”, Novosibirsk, Russian Federation.

(✉) **Shevchenko Alla V.**, e-mail: shalla64@mail.ru.