

# ПЛЕЙОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ГЕНОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К МНОГОФАКТОРНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ

**А.Н. Кучер**, доктор биологических наук, профессор,  
**Н.П. Бабушкина**, кандидат биологических наук,  
**С.В. Буйкин**, кандидат медицинских наук, **В.П. Пузырев**, академик РАМН, профессор

*ФГБУ «Научно-исследовательский институт  
медицинской генетики» Сибирского отделения РАМН, Томск*

**E-mail:** aksana.kucher@medgenetics.ru

*Представлен краткий обзор эволюции взглядов на явление плейотропии; рассмотрены вопросы оценки значимости плейотропных эффектов в формировании патологических состояний человека, прежде всего многофакторных заболеваний (МФЗ). Плейотропные эффекты генов-кандидатов МФЗ проиллюстрированы на основании результатов собственных исследований авторов. Показана вовлеченность одних и тех же однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP) в детерминацию различных функциональных состояний организма, а также в формирование фенотипической вариабельности различных эндофенотипов при некоторых патологиях. Полученные результаты указывают на важность накопления знаний о функциональной роли генов и их полиморфных вариантов путем анализа ассоциаций с конечными фенотипами (болезнь), эндофенотипами, а также интегральными показателями оценки функционирования организма человека.*

**Ключевые слова:** плейотропия, генетические ассоциации, многофакторные заболевания

## **PLEIOTROPIC EFFECTS OF MULTIFACTORIAL DISEASE SUSCEPTIBILITY GENES**

**A.N. Kucher, N.P. Babushkina, S.V. Buikin, V.P. Puzyrev**

*Research Institute of Medical Genetics of the Siberian Branch  
of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russian Federation*

*The article provides a brief overview of the evolution of views on the phenomenon of pleiotropy. We discuss with assessment of pleiotropic effects significance in the formation of human pathological states, above all – multifactorial diseases (MFD). Pleiotropic effects of candidate genes of MFD are illustrated on the basis of own research. We show the involvement of the same SNP in determination of different functional states of the organism, as well as in the formation of the phenotypic variability of different endophenotypes in certain pathologies. These results point to the importance of knowledge of the functional role of genes and their polymorphic variants through the analysis of associations with phenotypes (disease), endophenotypes and integral indicators assessment of the human body function.*

**Key words:** pleiotropy, genetic associations, multifactorial diseases

Понятие «плейотропия» предложено более 100 лет назад известным немецким исследователем в области генетики развития L. Plate, который в 1910 г. отмечал: «...Я называю единицу наследственности плейотропной, если от нее зависят несколько признаков; эти признаки будут, следовательно, проявляться совместно и могут, таким образом, проявлять взаимосвязь...» (цит. [18]). На протяжении последующих лет исследователи пытались ответить на вопросы: что есть плейотропия, насколько она универсальна, каковы механизмы плейотропии, каково эволюционное значение плейотропии? Значительный вклад в осмысление понятия плейотропии внесли отечественные ученые в 20–30-х годах XX века (Четвериков С.С., Рокицкий П.Ф., Астауров Б.Л., Серебровский А.С. и др.) (рис. 1).

На ранних этапах развития генетики высказывались диаметрально противоположные взгляды на «сферу компетенции генов» (от идеи, что каждый ген имеет свой специфический признак, до положения, что каждый ген определяет все признаки организма). Однако по мере накопления новых знаний происходило переосмысление феномена плейотропии (см. рис. 1, табл. 1). Так, выделение истинной (возникает, когда 2 различных продукта кодируются 1 локусом) и ложной (один и тот же продукт задействован в различных метаболических путях) (по Н. Grunberg) плейотропии было опровергнуто после признания положения «1 ген – 1 фермент» и возродилось по мере развития молекулярно-генетических исследований и установления механизмов функционирования генов (цит. [26]). Отметим, что, несмотря

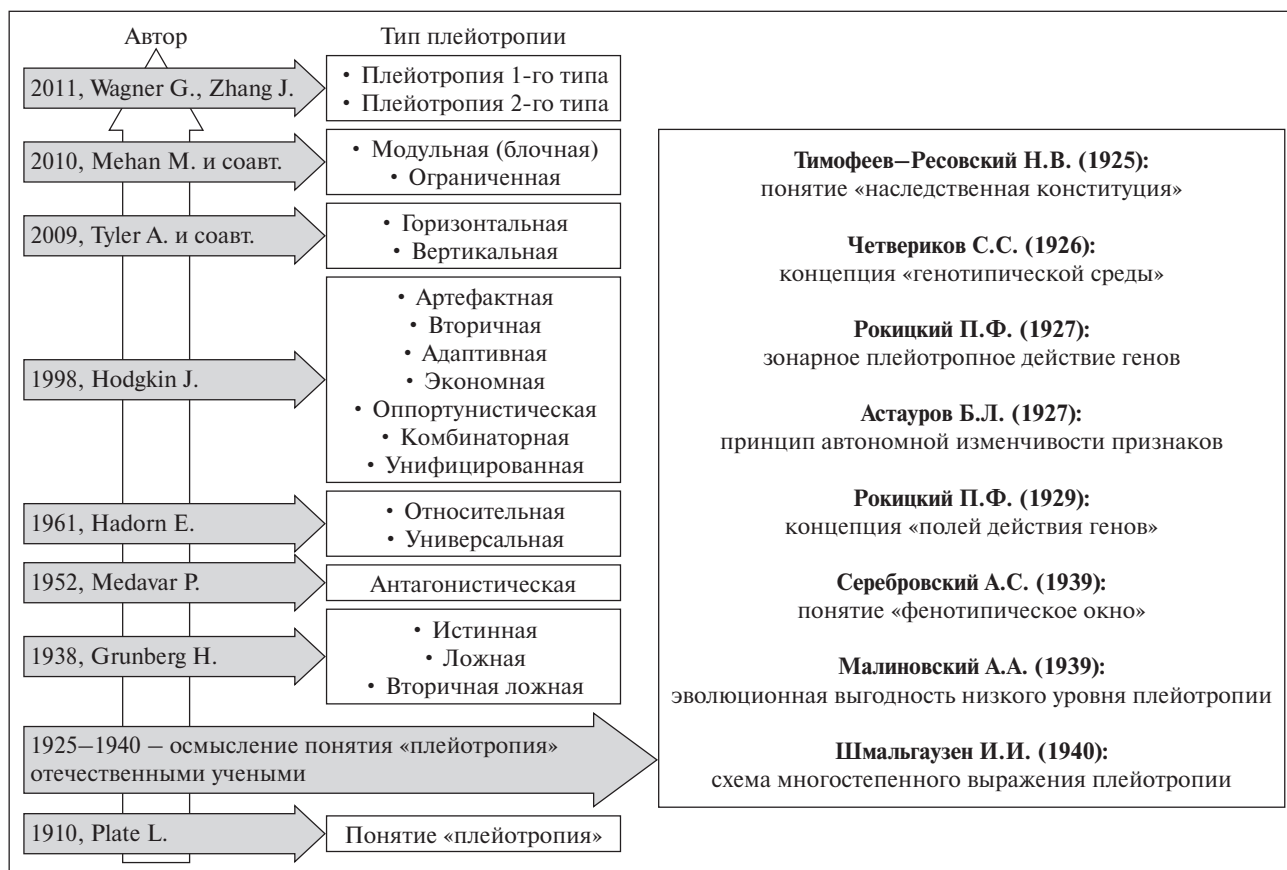


Рис. 1. Развитие представлений о типах плейотропий в эволюционном контексте

на некоторые различия в терминологии, выделялись практически идентичные в смысловом отношении типы плейотропий. В частности, некоторые современные исследователи [33], указав на неудачность обозначений «истинная» и «ложная» плейотропия в терминологии Н. Grunberg (см. табл. 1), выделяют, по сути, эквивалентные формы – плейотропия 1-го и 2-го типа. Другие 2 типа плейотропии – горизонтальная (наблюдаются множественные эффекты одного гена) и вертикальная (один фенотип непосредственно приводит к другому), введенные А. Tyler и соавт. [30], полностью согласуются с понятиями «мозаичная» и «относительная» (родственная) плейотропия в терминологии Е. Hadorn. Некоторые исследователи [15] предлагают более сложную классификацию типов плейотропий (см. табл. 1). В то же время, согласно современным данным, полученным на основании использования высокоразрешающих молекулярно-генетических технологий, плейотропные эффекты в значительной степени ограничены и в большей степени согласуются с модульным (блочным) типом, чем с универсальным (мутации по любому локусу оказывают прямое или не прямое влияние на все признаки) (см. табл. 1) [33]. Более подробно история вопроса рассмотрена F. Stearns [26].

### ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ГЕНОВ

Типы плейотропии выделяли в соответствии с тем, оценивалась сфера компетенции единичной мутации, гена или блоков тесно сцепленных генов, а также с учетом того, на каком уровне рассматривались эффекты этих наследственных единиц – отдельные признаки (физиологические, морфометрические и т.д.), метаболические пути (модули, блоки), эндофенотипы (в том числе и скоррелированные признаки) и конечные фенотипы. В зависимости от анализируемых типов, а также от использованных критериев формирования выборок признаков и генетических маркеров, методов анализа полученные оценки степени плейотропии (т.е. число показателей, на которые оказывали влияние гены/полиморфные варианты) различались.

Установлено, что эффект отдельно взятой нуклеотидной замены более скромнее, чем эффект целого гена [25, 27], особенно в случае различной функциональной значимости доменов белка при разных условиях и(или) их тканевой локализации [27]. Плейотропный эффект однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP) может также определяться его локализацией (более выражен для SNP, локализованных в экзонах) и функциональной значимостью (влияние

## ЭВОЛЮЦИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ПОНЯТИИ «ПЛЕЙОТРОПИЯ»

Тип плейотропии	Характеристика	Автор, год
Истинная	Один ген кодирует различные первичные продукты	H. Grunberg, 1938 (цит. [26])
Ложная	Один и тот же продукт гена используется в различных метаболических путях	
Вторичная ложная	Один первичный продукт запускает каскад событий с различными последствиями для фенотипа	
Антагонистическая	Гены оказывают антагонистический эффект на разных стадиях онтогенеза	P. Medawar, 1952; G. Williams, 1957 (цит. [26])
Мозаичная	Один локус прямо влияет на 2 фенотипических признака	E. Hadorn, 1961 (цит. [26])
Относительная	Один локус запускает каскад событий, которые значимы для множества независимых признаков	
Универсальная	Мутация по любому локусу прямо или косвенно может влиять почти на все признаки	E. Mayr, 1963 (цит. [26])
Артефактная	Одна и та же мутация влияет на близлежащие, но не родственные гены	J. Hodgkin, 1998 [15]
Вторичная	Простые первичные биохимические нарушения приводят к сложным конечным фенотипам	
Адаптивная	Характерна для многофункциональных белков: один продукт гена выполняет 2 и более функций, или по-разному функционирует в различных тканях (работа «по совместительству»)	
Экономная	Один и тот же продукт гена используется для идентичных химических процессов во множестве метаболических путей	
Оппортунистическая	Один продукт гена наряду с главной функцией выполняет некоторую дополнительную	
Комбинаторная	Один и тот же генный продукт используется в различных метаболических путях и обладает различными свойствами в зависимости от белковых партнеров	
Унифицированная	Один ген или кластер соседних генов кодируют множество химически активных веществ, которые поддерживают общие биологические функции	
Модульная (ограниченная, блочная)	Мутация оказывает влияние только на подмножество признаков	J. Welch, D. Waxman, 2003 (цит. [26])
Горизонтальная	Один ген имеет множество эффектов, различимых на одном и том же физиологическом уровне	A. Tyler et al., 2009 [30]
Вертикальная	Один фенотип непосредственно приводит к другому	M. Mehan et al., 2010 [19]
Модульная (блочная)	Плейотропные эффекты блоков генов зависят от включенности в различные сети (сети взаимодействия белков, метаболические сети, транскрипционно-регуляторные сети)	
Ограниченная	Каждый локус может влиять только на ограниченное число независимых линейных комбинаций фенотипических признаков	G. Wagner, J. Zhang, 2011 [33]
Плейотропия 1-го типа	Продукт гена имеет много молекулярных функций	
Плейотропия 2-го типа	Одна молекулярная функция гена определяет много морфологических и физиологических признаков	

на структуру и(или) функцию кодируемого продукта) и т.д. [25].

Согласно большинству экспериментальных данных, гены и локализованные в них полиморфные варианты в среднем оказывают влияние на небольшое число признаков. По данным Z. Su и соавт. [28], случайная мутация в гене (изучен 321 ген у представителей 7 видов позвоночных, в том числе человека)

влияет в среднем на 6–7 молекулярных фенотипов, соответствующих компонентам приспособленности организма (по данным GO – The Gene Ontology Consortium, 2002). Аналогичное значение получено для генов в отношении морфометрических признаков (на примере комплекса признаков, представляющих все основные подсистемы скелета мыши) [32]. В ряде исследований оценки плейотропных эффектов

генов характеризуются широким размахом — от 1,8 до 21,6 [33]. В то же время гены могут существенно различаться по эффектам: один ген может как вообще не влиять на вариабельность привлеченных к исследованию признаков, так и вовлекаться в детерминацию более 100 показателей (показано для морфологических признаков у дрожжей) [33].

Было предположено, что плейотропный эффект генов окажется более значимым, если генный продукт экспрессируется во многих тканях, тем самым мутации в них могут приводить к большему числу воздействий на фенотип [28]. Z. Su и соавт. [28] установлена значимая положительная корреляция между числом биологических процессов, в регуляцию которых вовлечены гены, и их плейотропным эффектом. В другом исследовании было показано, что высокой степенью плейотропии обладают гены, продукты которых характеризовались большим числом белков, с которыми они взаимодействуют, и были вовлечены в большое число биологических процессов; данный эффект не зависел от молекулярной функции белка или числа протеинов, кодируемых соответствующими генами [14].

Любой продукт гена реализует свой эффект через множество межгенных взаимодействий (отражающих взаимодействие между белками): эффект единичной мутации или варианта выражается, лишь проходя через тысячи ген-генных (белковых, метаболических) взаимодействий, проявляясь во множестве фенотипов, поэтому индивидуальный эффект гена наиболее корректно может быть оценен в контексте этих генных сетей (метаболических путей) [30]. При этом с точки зрения оценки плейотропных эффектов генов важными являются топология генной сети, местоположение гена в ней и число взаимодействий с другими элементами. В исследовании S. Chavali и соавт. [9] на основании анализа 5024 болезней, включенных в OMIM MorbidMap, были установлены различия в плейотропных эффектах генов в зависимости от их локализации в сетях, отражающих взаимодействие их белковых продуктов. Наблюдались следующие закономерности: во-первых, общие гены с плейотропным эффектом (ассоциированные со многими заболеваниями) в сетях белковых взаимодействий занимают место ближе к центру (по сравнению со специфическими генами, ассоциированными только с одной патологией). Во-вторых, ближе к центру сети также располагаются гены, для которых установлена ассоциация с фенотипически различными заболеваниями (phenodiv gene), в отличие от генов, ассоциированных с фенотипически сходными патологиями (phenosim gene).

Различия между 2 данными классами генов наблюдались и по другим параметрам. Так, общие гены имели большее число взаимодействий с другими генами болезней, чем это наблюдалось для специфических генов, и характеризовались относительно

ограниченной тканевой коэкспрессией с взаимодействующими генами (в противоположность специфическим генам).

С использованием специально разработанного подхода, основанного на анализе различных сетей (белок-белковые взаимодействия, Gene Ontology annotations и авторская база данных генотип-фенотипических взаимодействий), была предпринята попытка идентифицировать коэкспрессирующиеся модули, специфически действующие при определенных фенотипах [19]. Авторы применили этот подход для анализа данных с 338 биочипов, охватывающих 178 фенотипических классов. В результате было выявлено 193 145 фенотип-специфических коэкспрессирующихся модулей и предсказано 6558 генотип-фенотипических ассоциаций. Применительно только к фенотипам болезней было установлено, что плейотропным эффектом (ассоциированы как минимум с 2 фенотипами) обладают 40,9% из 8504 генов, в том числе плейотропные эффекты впервые установлены для 607 генов, а для 725 генов, ранее охарактеризованных как плейотропные, предсказаны новые проявления плейотропии (фенотипы). Кроме того, на основании анализа информации по 69 транскрипционным факторам, имеющим более 16 000 мишеней при различных условиях, было показано, что динамическая регуляция транскрипции является важным источником формирования специфических генных модулей.

Можно также предположить, что чем сложнее метаболический путь и чем больше шагов в нем отделяют продукт гена от изучаемого признака, тем в большей степени эффект этого гена будет сглаживаться. Вместе с тем, если мутация (полиморфный вариант) в гене приводит к существенному нарушению работы его продукта, для оптимизации функционирования системы в целом на уровне метаболической цепочки требуется определенная корректировка многих биохимических процессов. Поэтому интегральные параметры, отражающие функционирование системы (например, полученные на основании анализа главных компонент), могут оказаться более чувствительными для выявления плейотропных эффектов генов.

Эффекты мутации и гена могут различаться в зависимости не только от генотипического фона (на что обратил внимание еще в 1926 г. С. Четвериков [6], обосновав понятие «генотипическая среда»: «Один и тот же ген будет проявлять себя различно, в зависимости от того комплекса генов, которыми он окружен» (с. 164)), но и от средовых эффектов (внутренних и внешних). То, что средовые факторы могут выявить «скрытые» плейотропные эффекты, убедительно доказано в объемном исследовании, выполненном на *Saccharomyces cerevisiae*: на этом модельном объекте изучены фенотипы 4710 мутантов при 21 условии среды [12]. Хорошо известно, что



внутренние средовые факторы (например, гормональный фон) могут выступать в качестве одной из причин гендерных различий эффектов генов (хромосомных регионов), как это было показано при изучении влияния QTL, вносящих вклад в фенотипическую вариабельность признаков, имеющих отношение к ожирению [10].

Однако, как справедливо подчеркивали G. Wagner и J. Zhang [33], плейотропию можно оценить только в отношении уже изученных признаков.

### ПЛЕЙОТРОПНОСТЬ ГЕНОВ ПОЛИГЕННЫХ ПРИЗНАКОВ И МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В отношении многофакторных заболеваний (МФЗ) уместно заметить, что в эволюционной медицине болезнь рассматривается как результат конфликта между произошедшей в прошлом селекцией генов и требованиями сегодняшнего дня, неспособности наших генов «соответствовать» современному стилю жизни [4]. Главный источник подверженности хронической болезни сегодня – скрытая генетиче-

ская изменчивость, которая обнаруживается, высвобождается и нелинейно взаимодействует с резко изменившимися за последние 100 лет факторами среды (диета, табакокурение, поллютанты, стресс и многие другие). Изменение средовых условий функционирования генов в настоящее время, несомненно, в той или иной мере может сказаться на уровне выявляемых плейотропных эффектов генов.

Известно, что для МФЗ характерна существенная генетическая компонента. При этом, с одной стороны, как правило, вклад одного гена в детерминацию любого патологического состояния невелик [8], с другой – одни и те же гены (иногда – одни и те же полиморфные варианты) оказываются вовлечены в формирование предрасположенности к различным патологическим состояниям [34].

В качестве иллюстрации приведем информацию по ассоциациям, установленным для 13 генов-кандидатов широко распространенных заболеваний (рис. 2): в данном случае нет ни одного гена, который продемонстрировал бы строгую ассоциацию только с одним из изученных классов признаков

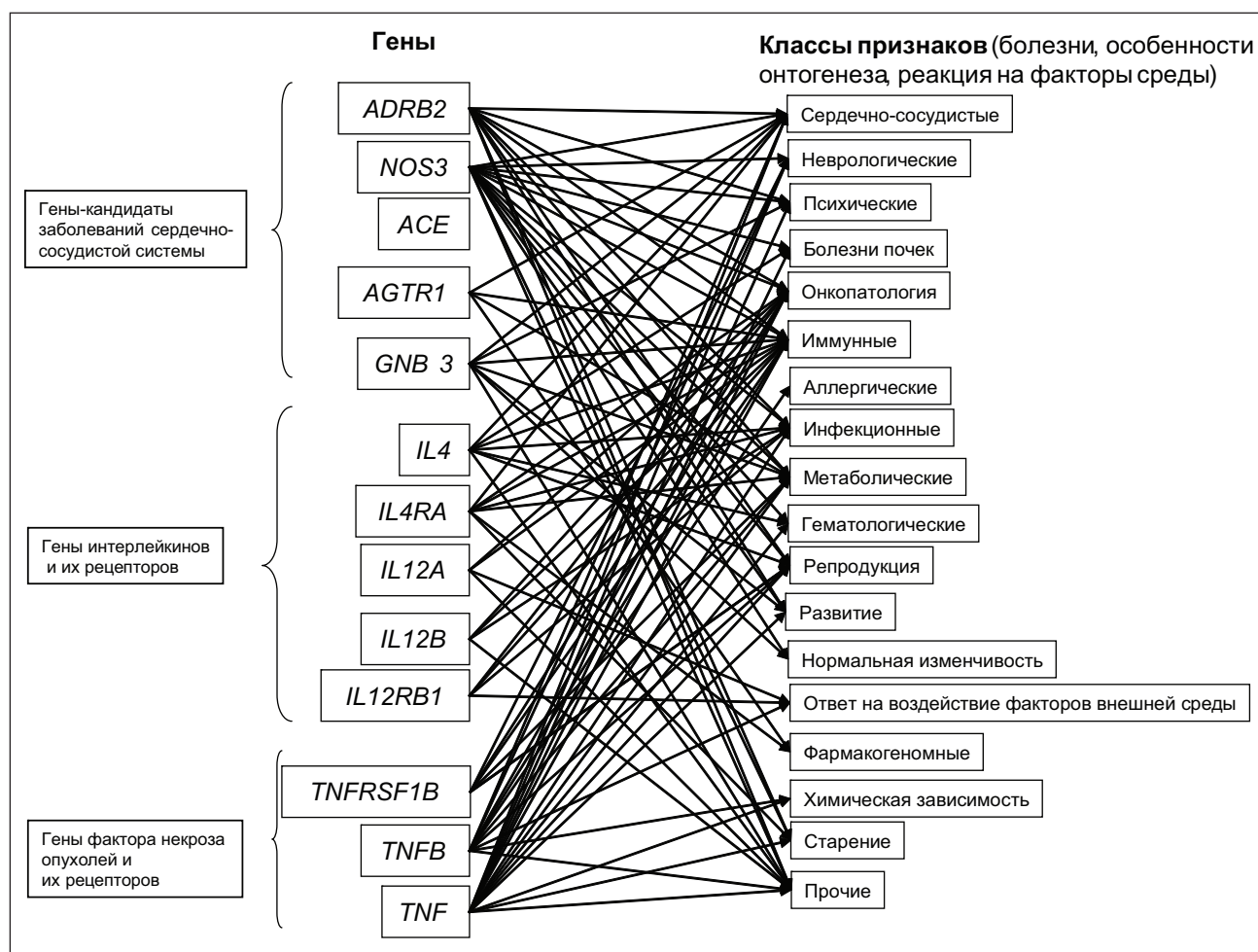


Рис. 2. Схематическое изображение вовлеченности ряда генов в формирование признаков (эндофенотипов) у человека (по Genetic Association Database [34])

(болезни различных систем органов, особенности онтогенеза, реакция на факторы внешней среды). Необходимо подчеркнуть, что приведенные данные иллюстрируют ассоциации генов не с конкретными заболеваниями (и признаками), а с группами функциональных состояний, в том числе и патологий. В действительности спектр патологических состояний, с которыми была показана ассоциация какого-либо полиморфного варианта данных генов-кандидатов, значительно шире. Более того, как отмечалось выше, можно ожидать расширения сферы компетенции данных генов по мере увеличения числа изученных болезней.

Среди всех привлеченных к рассмотрению генов для 5 (*NOS3*, *ACE*, *TNF*, *LTA* и *ADRB2*) было характерно наибольшее число классов болезней (состояний), с которыми установлена ассоциация локализованных в них полиморфных вариантов. Продукты этих генов характеризуются ярко выраженной функциональной «нагруженностью» — вовлечены во многочисленные метаболические пути (*TNF*, *NOS3*), взаимодействуют с большим числом белков (*TNF*, *ADRB2*), выполняют разнообразные функции (*ACE*, *NOS3*, *ADRB2*) и участвуют во многих биологических процессах (*TNF*, *NOS3*, *ADRB2*, *ACE*) (табл. 2). Очевидно, что функциональная характеристика продуктов генов (в том числе и привлеченных для анализа) и их участие в формировании предрасположенности к различным патологическим состояниям, в значительной степени определяются изученностью данных генов и состояний. Вместе с тем наблюдаемая

закономерность согласуется с выводами о том, что плейотропные эффекты генов зависят от числа белков, с которыми взаимодействуют продукты генов, и от числа биологических процессов, в которых они участвуют [14].

То, что одни и те же гены продемонстрировали ассоциации с разными классами болезней, может объяснять неслучайность наличия различных болезней у одного и того же индивида. На этот факт указывалось еще в позапрошлом веке и было убедительно подтверждено широкомасштабными работами в начале XXI века [24]. На основании анализа более 5000 фенотипов, информация по которым включена в базу данных OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man database), было установлено, что сходство между различными фенотипами определяется биологическими модулями взаимодействующих функционально родственных генов, а патологические фенотипы человека лучше отражают нарушение функциональных модулей, чем индивидуальных генов [31]. При этом сходство между фенотипами оказывалось тем выше, чем больше функций было характерно для генов, входящих в данные модули, в том числе и проявляющихся посредством белок-белковых взаимодействий.

Заключения авторов цитируемых выше работ согласуются с результатами других исследователей. Так, известно, что астма и некоторые метаболические нарушения (например, ожирение) часто сочетаются, что подтверждается как экспериментальными исследованиями, так и клиническими наблюдениями [7, 11]. Среди 22 генов, для которых установлена

Таблица 2

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ ПОДВЕРЖЕННОСТИ МФЗ (ПО ДАННЫМ NCBI [35])

Гены	Число метаболических путей (по BioSystems)				Число взаимодействующих белков	Количество функций	Количество биохимических процессов
	KEGG	WikiPathways	REACTOME	Pathway Interaction Database			
<i>AGTR1</i>	4	3	6	2	24	8	32
<i>ACE</i>	3	1	4	-	3	13	24
<i>NOS3</i>	4	2	10	6	13	13	69
<i>ADRB2</i>	4	4	7	1	32	13	31
<i>GNB3</i>	3	4	46	1	7	2	6
<i>IL4</i>	12	3	-	7	5	4	43
<i>IL4RA</i>	3	2	-	1	22	6	9
<i>IL12A</i>	14	1	-	2	5	6	21
<i>IL12B</i>	13	2	-	3	4	11	23
<i>IL12RB1</i>	2	-	-	3	5	6	12
<i>TNF</i>	34	12	6	15	27	5	83
<i>LTA</i>	2	1	-	2	10	4	15
<i>TNFRSF1B</i>	3	4	-	1	20	3	7

ассоциация с астмой, как минимум в 3 независимых репликативных исследованиях 6 оказались ассоциированы с такими эндокринными нарушениями, как резистентность к инсулину (*TNF*, *VDR*), ожирение (*TNF*, *VDR*, *IL4RA*, *CD14*), сахарный диабет (СД) типа 1 (*TNF*, *VDR*, *IL4RA*, *CD14*, *CCL5*, *ADAM33*) и СД типа 2 (*TNF*); наблюдалось существенное перекрытие между локусами, предрасполагающими к астме и эндокринным нарушениям, согласно данным GWAS [29]. Высокая положительная генетическая корреляция (около 0,31,  $p=0,024$ ) установлена на основании анализа данных WTCCC (Wellcome Trust Case Control Consortium) GWAS между риском развития СД типа 2 и гипертонией [17]. В другом исследовании (информация получена для более чем 13 млн пожилых пациентов) на основании анализа структуры коморбидности и данных об ассоциациях между генами и патологиями, включенными в OMIM, было сделано заключение, что коморбидность выше для заболеваний: 1) у которых больше общих генов (ассоциированных с патологиями); 2) в случае, если имеются общие связи через белок-белковые взаимодействия (сети) между данными патологиями; 3) при высокой коэкспрессии генов, ассоциированных с заболеваниями [22].

Большинство ассоциативных исследований основываются на изучении влияния одного или нескольких маркеров на какой-либо отдельный (единичный) признак. Согласно мнению некоторых исследователей, такие подходы занижают возможность выявления плейотропных эффектов генов. Поэтому проводятся изыскания, направленные на обобщение накопленных данных, в том числе полученных при использовании GWAS. У японцев (14 792 обследованных) на основании GWAS было идентифицировано 12 SNP, статистически значимо ( $p < 5,0 \cdot 10^{-8}$ ) ассоциированных с 5 основными субтипами лейкоцитов (нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, базофилы и эозинофилы) [21]. В последующем на выборке, превышавшей 30 тыс. человек (японцы), была оценена вовлеченность этих локусов в определение уровня 13 показателей крови (помимо показателей, перечисленных выше, анализировали уровень гемоглобина, гематокрит и др.) [21]. Оказалось, что 9 из 12 привлеченных к анализу локусов продемонстрировали ассоциации с другими показателями крови; наибольшее число плейотропных ассоциаций наблюдалось для гена *HBS1-MyB* (установлены ассоциации со всеми проанализированными гематологическими признаками). S. Sivakumaran и соавт. [25] на основании данных GWAS показано, что 16,9% генов и 4,6% SNPs обладают плейотропным эффектом; при этом оценки уровня плейотропии варьируют в зависимости от привлеченных к анализу заболеваний и методов, использованных для оценки степени плейотропии. Например, для неиммунозависимых заболеваний при использовании разных методов оценки к категории

плейотропных отнесены от 10 до 14% генов и от 4,6 до 7,8% SNP. В другом исследовании с использованием разработанного авторами метода PRIME (Pleiotropic Region Identification Method) [16] на основании анализа данных GWAS Catalog были определены 57 регионов с высоким плейотропным индексом (расчетный показатель  $>5$ ); top-регион включал гены *FTO* и *GSKR* (плейотропный индекс – 18), регион гена *ABO* (плейотропный индекс – 9).

Для оценки плейотропных эффектов генов путем анализа патологических состояний разрабатываются новые методы – например, такие как метод PCBMR (Principal-Component-Based Multivariate Regression), который, по сути, представляет собой комбинирование 2 методов – главных компонент и мультивариантной регрессии [20]; би-кластеризующий (biclustering) или блок-кластеризующий (block-clustering) алгоритм, основанный на Байесовской модели [13]. Оба подхода были апробированы на фактическом материале. Так, применение PCBMR-метода при изучении метаболического синдрома позволило выделить 11 ассоциированных с данным состоянием генов, некоторые из них ранее образовывали ассоциации с метаболическими признаками, другие были идентифицированы только в данном исследовании [20]. M. Gupta и соавт. [13] на основании GWAS-данных для 23 фенотипов, вовлеченных в риск развития переломов костей (минеральная плотность костей, количественные параметры кости по данным УЗИ, геометрия костей, мышечная масса), была выделена группа (кластер) из 10 признаков, имеющих общие гены (SNP), ассоциированные с признаками. Кластеризованные признаки характеризовались более высокими значениями генетической корреляции по сравнению с признаками, не попавшими в кластеры. Авторами также выделены плейотропные генные сети, вовлеченные в регуляцию этих кластеризованных признаков, которые были связаны с несколькими каноническими метаболическими путями (pathways), имеющими отношение к формированию костей, а также включали несколько новых потенциальных генов-кандидатов для ряда изученных признаков.

В отношении МФЗ следует указать на несколько важных моментов.

1. Чем больше индекс плейотропности генов, тем выше вероятность их вовлечения в индивидуальную коморбидность (синтропию).

2. Если разные аллели (генотипы) увеличивают риск развития тех или иных патологических состояний, то сочетание этих заболеваний у одного и того же индивида – менее вероятное событие (дистропные болезни). Однако в отношении и синтропных, и дистропных болезней необходимо иметь в виду, что любое МФЗ определяется комплексом как генетических, так и средовых факторов; именно их сочетание в конечном итоге определит риск развития патологии.

3. Риск развития патологии и характер течения заболевания – разные процессы. Это значит, что одни и те же аллельные варианты (генотипы) могут, с одной стороны, увеличивать риск развития патологии, но способствовать более легкому ее течению, другие – снижать вероятность развития заболевания, но если индивиды с благоприятной генетической конституцией заболеют, болезнь может протекать более тяжело. Именно поэтому важно учитывать не только влияние генетических маркеров на риск развития патологии (конечный фенотип), но и на характер его течения (эндофенотипы). Такой подход, с одной стороны, позволит уточнить возможные плейотропные эффекты генов, с другой – по мере познания биологии болезней будет способствовать более точной оценке характера течения болезни, что важно для разработки адекватных терапевтических мероприятий.

4. Наличие предрасполагающего аллеля и(или) генотипа не определяет однозначно развитие заболевания; в любом случае необходимо сочетание многих факторов риска – как генетических, так и средовых. Причем в случае инфекционных патологий средовые факторы преобладают, поскольку наличие патогена и степень активности штамма являются ведущими факторами. Если носители рискованных аллелей избежали развития патологии, то в более позднем возрасте эти же аллели могут способствовать долголетию (феномен антагонистической плейотропии).

Проиллюстрируем данные положения примерами.

Нами изучена вовлеченность 19 полиморфных вариантов, локализованных в 13 генах – *ADRB2* (rs1042713, rs1042714); *NOS3* (rs2070744, rs1799983, VNTR); *ACE* (rs4343, rs4291); *AGTR1* (rs5186); *GNB3* (rs5443); *IL4* (rs2243291); *IL4RA* (rs1801275, rs2074570);

*IL12A* (rs568408); *IL12B* (rs3212227, rs3212220); *IL12RB1* (rs3746190, rs11575926); *TNFRSF1B* (rs1061622); *LTA* (rs909253) и *TNF* (rs1800629) – в формирование риска развития некоторых конечных фенотипов (долгожительство и 2 патологических состояния – гепатит С и туберкулез легких) и комплекса количественных показателей (в том числе патогенетически значимых) при разных состояниях. Характеристика изученных генов и полиморфизмов, их популяционная изменчивость и методы анализа опубликованы ранее [1–3].

Из 20 изученных полиморфных вариантов 4 оказались ассоциированы с проанализированными конечными фенотипами (патологии, долгожительство). Причем 2 из них локализованы в 1 гене (*ACE*), но показали ассоциации с разными физиологическими состояниями организма (долгожительство и вирусный гепатит С) (рис. 3). Ранее [5] было показано, что гетерозиготный генотип по rs4291 гена *ACE* (ассоциированный в настоящем исследовании с долгожительством) предрасполагал к развитию гипертрофии левого желудочка при эссенциальной гипертензии (АГ).

Полиморфные варианты, локализованные еще в 2 генах (*IL4RA*, *NOS3*), также продемонстрировали плейотропные эффекты. По полиморфному варианту rs1801275 гена *IL4RA* аллель G, а также гомозиготы и гетерозиготы по данному аллелю предрасполагали к развитию гепатита С и долгожительству. Это значит, что при воздействии патогенных микроорганизмов у обладателей данных генотипов повышен риск развития патологии (неблагоприятное средовое воздействие), но эти же генотипы способствуют более высокой продолжительности жизни при благоприятных средовых условиях.

Наибольшее число ассоциаций показано для rs1799983 гена *NOS3*, причем во всех случаях как для патологических состояний (гепатит С, туберкулез легких), так и для долгожительства предрасполагающим являлся аллель Т (для патологий, кроме того, генотип ТТ). Ранее было показано [5], что этот же вариант (аллель Т, генотипы ТТ и GT) гена *NOS3* ассоциирован с гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ) при АГ в сочетании с СД типа 2; хронической обструктивной болезнью легких у русских, а также у татар при воздействии профессиональных вредностей. В то же время риск развития СД типа 1 (инсулинозависимого) более высок у обладателей аллеля G (и генотипа GG) по данному полиморфизму [5]. При этом для другого SNP гена *NOS3* (rs1549758) также было установлено, что к СД типа 1 предрасполагает аллель С, тогда как аллель Т – к развитию ГЛЖ [5]. Возможно, СД типа 1, с одной стороны, и сочетание таких патологий, как ГЛЖ, АГ и СД типа 2, с другой – это дистропные состояния.

Из привлеченных к анализу полиморфных вариантов значения отношения шансов (OR) для изучен-

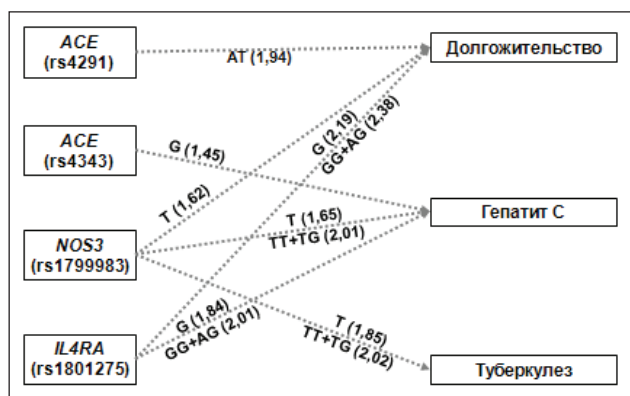
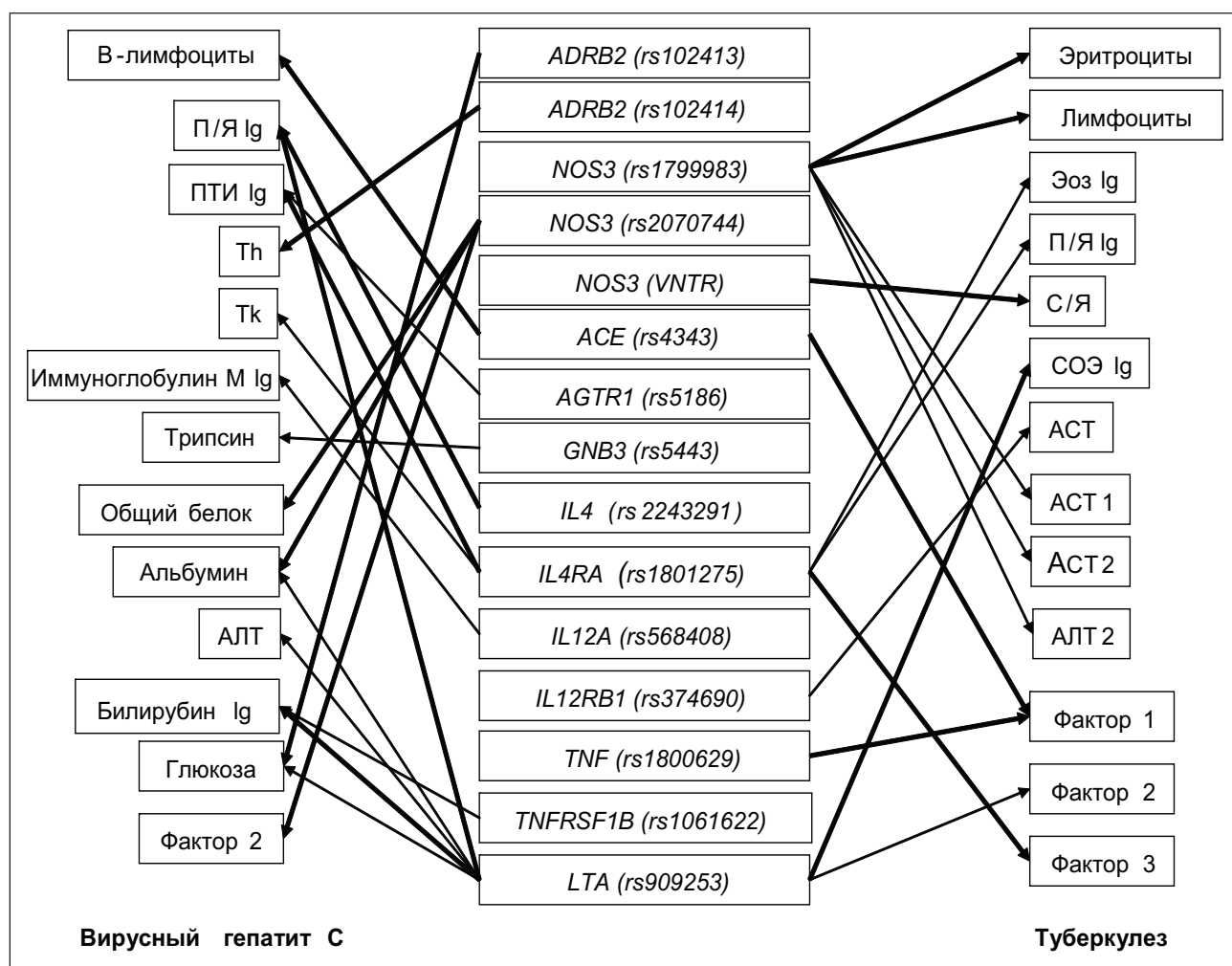


Рис. 3. Ассоциации полиморфных вариантов генов с различными состояниями у русских жителей Томска. Над соединяющими стрелками приведены ассоциированные с состоянием аллели, под ними – генотипы; в скобках – значения OR



ных состояний организма хотя и были в ряде случаев статистически значимы, но не превышали 2,5 (см. рис. 3).

Для оценки влияния ассоциированных с патологическими состояниями аллельных вариантов генов на формирование эндотипов при соответствую-



**Рис. 4.** Ассоциации изученных полиморфных вариантов с некоторыми количественными показателями (Ig – для расчета использовались логарифмированные данные) у больных вирусным гепатитом С и туберкулезом: П/Я – палочкоядерные нейтрофилы; ПТИ – протромбиновый индекс; Th – Т-хелперы; Tk – Т-киллеры; АЛТ – уровень аланинаминотрансферазы до лечения (АЛТ2 – через 4 нед с момента начала лечения); АСТ – уровень аспартатаминотрансферазы до лечения (АСТ1 и АСТ2 – соответственно через 2 и 4 нед с момента начала лечения); Эоз – эозинофилы; С/Я – сегментоядерные нейтрофилы; СОЭ – скорость оседания эритроцитов. Фактор 1, фактор 2 и фактор 3 – выделены на основании анализа главных компонент. В группе больных туберкулезом оценены ассоциации изученных полиморфных вариантов с собственными значениями главных компонент, выделенных на основании анализа ряда признаков (количество С/Я и П/Я (Ig) нейтрофилов, лимфоцитов, эозинофилов (Ig), эритроцитов, моноцитов, уровень гемоглобина (Hb) и СОЭ (Ig)); 3 главные компоненты (факторы 1–3) объясняют 72% фенотипической изменчивости анализируемых признаков: в фактор 1 (фактор оксигенации) с максимальными нагрузками вошли показатели: количество эритроцитов и уровень Hb (объясняет около 35% вариации изученных признаков); фактор 2 (фактор агранулоцитов) представлен отрицательными значениями уровня моноцитов, СОЭ и уровнем лимфоцитов; фактор 3 (фактор гранулоцитов) включает значения концентрации эозинофилов, П/Я и С/Я нейтрофилов. У больных вирусным гепатитом С установлена ассоциация 1 полиморфного варианта гена NOS3 со 2-й главной компонентой (фактор 2 – фактор гуморального лимфоцитарного ответа), которая представлена показателями уровня эозинофилов (Ig) и с отрицательными значениями Ig A, M (Ig), G (объясняет 16,81% общей фенотипической изменчивости); при расчете факторных нагрузок, помимо включенных в фактор 2 признаков, учитывали количество П/Я (Ig) и С/Я нейтрофилов, лимфоцитов (Ig), В-лимфоцитов, моноцитов (Ig), Т-хелперов и Т-киллеров

ющих патологиях была проанализирована зависимость уровня ряда количественных параметров от генотипов по изученным маркерам у больных вирусным гепатитом С и туберкулезом легких. При гепатите С установлена зависимость ряда привлеченных к анализу количественных показателей от изученных полиморфных вариантов: всего установлено 18 ассоциаций (12 количественных признаков и 1 интегральный показатель – фактор 2; пояснения – см. подпись к рис. 4) с 11 SNP, локализованными в 10 генах. Причем из 3 SNP, ассоциированных с вирусным гепатитом С, для 2 замен показано статистически значимое влияние на изменчивость ряда эндотипов при данной патологии: rs4343 гена *ACE* ассоциирован с уровнем В-лимфоцитов, rs1801275 гена *IL4RA* – с количеством палочкоядерных нейтрофилов и Т-киллеров (см. рис. 4). В большинстве случаев вклад генов в вариабельность изученных признаков был небольшим, для 8 признаков он не превышал 1% (на рис. 4 – тонкие соединительные линии) и только для 2 (уровень альбумина и фактор 2; пояснения – см. подпись к рис. 3) был выше 5% (табл. 3).

Единственный ассоциированный с туберкулезом легких SNP (rs1799983 гена *NOS3*) определяет и уровень вариабельности ряда количественных показателей при данной патологии (см. рис. 4). Кроме того, установлены ассоциации и других 6 полиморфных вариантов генов с 9 количественными показателями, 3 из которых – собственные векторы главных компонент (факторы 1, 2, 3; пояснения – см. подпись к рис. 4). Как и в случае гепатита С, при туберкулезе вклад генов в фенотипическую вариабельность признаков в ряде случаев был невысок (<1%), однако, для большинства признаков установлено влияние, превышающее 5%. Это касалось как отдельных показателей (уровня эритроцитов, сегментоядерных нейтрофилов, скорости оседания эритроцитов – СОЭ; вклад SNP в изменчивость признаков варьировал от 5,94 до 9,11%), так и интегральных факторов – всех 3-х выделенных факторов при использовании метода главных компонент, которые суммарно объясняют более 72% фенотипической изменчивости, включенных в анализ признаков (см. примечание к рис. 4: вклад SNP в вариабельность показателей находился в границах 7,74–12,33%).

Таблица 3

ДОЛЯ ОБЩЕЙ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ДИСПЕРСИИ (G, %), ОБУСЛОВЛЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТЬЮ ЛОКУСОВ, ПРОДЕМОНСТРИРОВАВШИХ АССОЦИИИ С КОЛИЧЕСТВЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ\*

Ген/полиморфизм	Патология	Показатель	G, %
<i>Гены интерлейкинов и их рецепторов</i>			
<i>IL4RA/rs1801275</i>	Туберкулез	Фактор 3**	7,86
	Гепатит С	Протромбиновый индекс (Ig)	2,2
<i>IL4/rs2243291</i>	Гепатит С	Палочкоядерные нейтрофилы (Ig)	2,86
<i>Гены-кандидаты заболеваний сердечно-сосудистой системы</i>			
<i>NOS3/rs1799983</i>	Туберкулез	Лимфоциты	2,98
	Туберкулез	Эритроциты	6,55
<i>NOS3/rs2070744</i>	Гепатит С	Общий белок	1,3
		Альбумин	6,57
		Фактор 2**	12,33
<i>NOS3/VNTR</i>	Туберкулез	Сегментоядерные нейтрофилы	5,94
<i>ACE/rs4343</i>	Туберкулез	Фактор 1**	8,97
	Гепатит С	В-лимфоциты	6,64
<i>ADRB2/rs1042713</i>	Гепатит С	Уровень глюкозы	1,91
<i>ADRB2/rs1042714</i>		Т-хелперы	2,86
<i>Гены фактора некроза опухоли и их рецепторов</i>			
<i>TNF/rs1800629</i>	Туберкулез	Фактор 1**	7,74
<i>LTA/rs909253</i>	Туберкулез	Скорость оседания эритроцитов (Ig)	9,11
	Гепатит С	Уровень глюкозы	1,92
		Палочкоядерные нейтрофилы (Ig)	2,32

**Примечание.** \* – Приведены только показатели, для которых вклад соответствующих маркеров в фенотипическую изменчивость признаков превышал 1%; Ig – для расчета использовались логарифмированные данные. \*\* Интерпретация факторов – см. подпись к рис. 4.

Сказанное выше свидетельствует о том, что установление плейотропных эффектов генов представляет собой сложную и многогранную проблему. За более чем вековую историю изучения явления плейотропии накоплена обширная информация, осмысление которой имеет не только теоретическое значение (понимание особенностей функционирования генома в норме и при различных патологических состояниях), но важно и для практического здравоохранения – разработки новых стратегий диагностики и тактики лечения заболеваний. Так, в случае регистрации единичных ассоциаций «аллельный вариант – симптом» при разработке лекарственных препаратов всегда следует иметь в виду, что ген мо-

жет обладать плейотропным эффектом, поэтому разработка терапевтических средств, направленных на корректировку одного специфического эффекта гена, может быть не просто неэффективна [33], но даже вредна. Именно поэтому исследования, направленные на установление плейотропных эффектов генов, по-прежнему являются приоритетными и реализуются в рамках различных проектов, в том числе и в рамках исследования PheWAS (phenome-wide association study) [23] – широко-феномного ассоциативного исследования, цель которого заключается в одновременном изучении фенотипической структуры и генотипической вариабельности в различных этнотерриториальных группах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов у представителей четырех этнических групп Сибирского региона // *Мед. генетика*. – 2009; 8 (10): 43–52.
2. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Маркова В.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов-кандидатов заболеваний сердечно-сосудистой системы у представителей четырех этнических групп Сибирского региона // *Мед. генетика*. – 2010; 5: 24–34.
3. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов факторов некроза опухоли и их рецепторов у представителей четырех этнических групп Сибирского региона // *Мед. генетика*. – 2010; 6: 16–23.
4. Пузырев В.П., Кучер А.Н. Эволюционно-онтогенетические аспекты патогенетики хронических болезней человека // *Генетика*. – 2011; 47 (12): 1573–83.
5. Пузырев В.П., Фрейдлин М.Б., Кучер А.Н. Генетическое разнообразие и болезни человека. Томск, Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. – 320 с.
6. Четвериков С.С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики / *Классики советской генетики. 1920–1940*. Ленинград: Из-во «Наука» Ленинградское отделение. 1968. С. 133–170.
7. Beuther D. Resent insight into obesity and asthma // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2010; 16: 64–70.
8. Bodmer W., Bonilla C. Common and rare variants in multifactorial susceptibility to common diseases // *Nature. Genet.* – 2008; 40 (6): 695–701.
9. Chavali S., Barrenas F., Kanduri K. et al. Network properties of human disease genes with pleiotropic effects // *BMC Systems Biology*. 2010. 4: 78. <http://biomedcentral.com/1752-0509/4/78>
10. Chiu Y.-F., Chuang L.-M., Kao H.-Y. et al. Sex-specific genetic architecture of human fatness in Chinese: the SAPHIRe Study // *Hum. Genet.* – 2010; 128: 501–13.
11. Delgado J., Barranco P., Quirce S. Obesity and asthma // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* – 2008; 18: 420–5.
12. Dudley A., Jansw D., Tanay A. et al. A global view of pleiotropy and phenotypically derived gene function in yeast // *Mol. Syst. Biol.* – 2005. doi:10.1038/msb4100004.
13. Gupta M., Cheung C.-L., Hsu Y.-H. et al. Identification of homogeneous genetic architecture of multiple genetically correlated traits by block clustering of Genome-Wide Associations // *J. Bone and Mineral Research*. – 2011; 26 (6): 1261–71.
14. He X., Zhang J. Toward a molecular understanding of pleiotropy // *Genetics*. – 2006; 173: 1885–91.
15. Hodgkin J. Seven types of pleiotropy // *Int. J. Dev. Biol.* – 1998; 42: 501–5.
16. Huang J., Jonson A., O'Donnell C. PRIME: a method for characterization and evaluation of pleiotropic regions from multiple genome-wide association studies // *Bioinformatics*. – 2011; 29 (9): 1201–6.
17. Lee S., Yang J., Goddard M. et al. Estimation of pleiotropy between complex diseases using SNP-derived genomic relationships and restricted maximum likelihood // *Bioinformatics*. – 2012. doi: 10.1093/bioinformatics/bts474. First published online: July 26, 2012 <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/early/2012/07/26/bioinformatics.bts474.full.pdf+html>
18. McKusick V. Pleiotropism // *Am. J. Hum. Genet.* – 1976; 28: 301–2.
19. Mehan M., Nunez-Iglesias J., Dai C. et al. An integrative modular approach to systematically predict gene-phenotype associations // *BMC Bioinformatics*. – 2010; 11 (Suppl. 1): 62. <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/11/S1/s62>
20. Mei H., Chen W., Dellinger A. et al. Principal-component-based multivariate regression for genetic association studies of metabolic syndrome components // *BMC. Genetics*. – 2010; 11: 100. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/11/100>
21. Okada Y., Hirota T., Kamatani Y. et al. Identification of nine novel loci associated with white blood cell subtypes in Japanese population // *PLoS Genetics*. – 2011; 7: Issue 6. e1002067.
22. Park J., Christakis N., Barbasi A. The impact of cellular networks on disease comorbidity // *Mol. Syst. Biol.* – 2009; 5: 262. doi:10.1038/msb.2009.16
23. Pendergrass S., Brown-Gentry K., Dudek S. et al. The use of Phenome-Wide Association Studies (PheWAS) for exploration of novel genotype-phenotype relationship and pleiotropy discovery // *Genet. Epidemiol.* – 2011; 35 (5): 410–22.
24. Rzhetsky A., Wajngurf D., Park N. et al. Probing genetic overlap among complex human phenotypes // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2007; 104 (5): 11694–9.
25. Sivakumaran S., Agakov F., Theodoratou E. et al. Abundant pleiotropy in human complex diseases and traits // *Am. J. Hum. Genet.* – 2011; 89: 607–18.
26. Stearns F. One hundred years of pleiotropy: a retrospective // *Genetics*. – 2010; 186 (11): 767–73.
27. Stern D. Evolutionary developmental biology and problem variation // *Evolution*. – 2000; 54: 1079–91.
28. Su Z., Zeng Y., Gu X. A preliminary analysis of gene pleiotropy estimated from protein sequences // *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*. – 2010; 314B: 115–22.
29. Tesse R., Schieck M., Kabesch M. Asthma and endocrine disorders: Shared mechanism and genetic pleiotropy // *Mol. and Cell. Endocrinol.* – 2011; 333: 103–11.
30. Tyler A., Asselbergs F., Williams S. et al. Shadows of complexity: what biological networks reveal about epistasis and pleiotropy // *BioEssays*. – 2009; 31: 220–7.
31. van Driel M., Bruggeman J., Vriend G. et al. A text-mining analysis of the human genome // *Europ. J. Hum. Genet.* – 2006; 14: 535–42.
32. Wagner G., Kenney J., Pavlicev M. et al. Pleiotropic scaling of gene effects and the 'cost of complexity' // *Nature*. – 2008; 452: 470–2.
33. Wagner G., Zhang J. The pleiotropic structure of the genotype – phenotype map: the evolvability of complex organisms // *Nature*. – 2011; 112: 204–13.
34. URL: <http://geneticassociationdb.nih.gov/cgi-bin/index.cgi>
35. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>