

УДК: 575.17+616.5

Мета-анализ делеции *2282del4* в гене *FLG* как фактора риска атопического дерматита

Д.О.Сивальнова, Л.А.Атраментова

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
atramentova@yandex.ru, gakkerell@gmail.com

В статье отражены результаты мета-анализа ассоциации мутации с атопическим дерматитом на примере делеции *2282del4* в гене *FLG*. Мета-анализ результатов 10 публикаций выполнен методом Мантела–Хэнзела. Значение отношения шансов в изучаемых работах варьирует от 1,78 до 32,5. В двух исследованиях 95% доверительный интервал включает единицу, что свидетельствует о статистически не значимой ассоциации. Для модели фиксированных эффектов среднее значение $OR_{MH}=3,93$, для модели случайных эффектов $OR_{MH}=4,29$. Наряду с этим размеры доверительных интервалов сильно варьируют (4,40 и 1,97). Для представителей европейской расы на высоком уровне значимости доказана ассоциация атопического дерматита с делецией *2282del4* гена *FLG*. Полученными статистическими оценками можно пользоваться в генетическом прогнозировании, учитывая при этом региональные особенности.

Ключевые слова: мета-анализ, ген *FLG*, *2282del4*, атопический дерматит.

Мета-аналіз делеції *2282del4* у гені *FLG* як фактор ризику атопічного дерматиту

Д.О.Сивальнова, Л.О.Атраментова

Стаття містить результати мета-аналізу асоціації мутації із атопічним дерматитом на прикладі делеції *2282del4* в гені *FLG*. Мета-аналіз результатів 10 публікацій виконаний методом Мантела–Хензела. Значення відношення шансів в досліджуваних роботах варіює від 1,78 до 32,5. У двох дослідженнях 95% довірчий інтервал включає одиницю, це свідчить, що асоціація статистично не значима. Для моделі фіксованих ефектів середнє значення $OR_{MH}=3,93$, для моделі випадкових ефектів $OR_{MH}=4,29$. Поряд з цим розміри довірчих інтервалів сильно варіюють (4,40 та 1,97). Таким чином, для представників європейської раси на високому рівні значимості доведена асоціація атопічного дерматиту з делецією *2282del4* у гені *FLG*. Отриманими статистичними оцінками можна користуватися в генетичному прогнозуванні, враховуючи при цьому регіональні особливості.

Ключові слова: мета-аналіз, ген *FLG*, *2282del4*, атопічний дерматит.

A meta-analysis of deletion *2282del4* in the gene *FLG* as a risk factor for atopic dermatitis

D.O.Sivalnyova, L.A.Atramentova

The article contains the results of a meta-analysis of the association of a mutation with atopic dermatitis by example of a deletion *2282del4* in the gene *FLG*. Detection of the mutation was performed by PCR-RFLP. A meta-analysis of 10 publications was performed by the method Mantel-Haenszel. The value of odds ratios in the studied works ranging from 1.78 to 32.5. In two studies, 95% confidence interval includes one, this means that the result is not statistically significant. For a fixed effects model the average value $OR_{MH}=3,93$, for the random effects model $OR_{MH}=4,29$. Along with this, values of the confidence intervals are highly variable (4.4 and 1.97). So for representatives of the European race at a high level of significance there was proved association of atopic dermatitis with a deletion *2282del4* of the gene *FLG*. Statistical estimates obtained can be used in genetic prediction, taking into account regional peculiarities.

Key words: meta-analysis, *FLG* gene, *2282del4*, atopic dermatitis.

Введение

Поиск генетических маркёров сложно наследуемых (мультифакторных) заболеваний – магистральная задача современной генетики человека и медицинской генетики. Исследования одних и тех же генетических вариантов проводятся разными лабораториями в разных странах на разных этнических группах. В части исследований получается положительный эффект, в части –

отрицательный, и, несмотря на большое число исследований, проблема остаётся нерешённой, при этом отдельные исследования из-за неодинакового объёма имеют разную доказательную ценность. Результаты, получаемые в таких исследованиях, в классических обзорах нередко называют «неоднозначными» или «противоречивыми». В качестве оправдания такой неоднозначности обычно приводят аргументы, связанные с особенностями генофонда и среды обитания, забывая о неизбежном эффекте выборочности. Подобным исследованиям часто не хватает статистической мощности, поскольку ассоциации между генетической специфичностью и мультифакторным заболеванием обычно не настолько сильны, чтобы быть обнаруженными на малочисленных выборках. Справиться с такой ситуацией позволяет мета-анализ (статистический обзор), позволяющий интегрировать результаты отдельных научных исследований и, увеличив общий объём наблюдений, повысить мощность исследования. Мета-анализ необходим, когда результаты отдельных исследований не согласуются, когда их размер мал, а проведение больших исследований экономически затруднительно.

Цель данной статьи – на примере делеции 2282del4 в гене FLG выполнить мета-анализ ассоциации этой мутации с atopическим дерматитом.

Материалы и методы

В разработке критериев отбора публикаций мы ориентировались на дизайн собственного исследования, выполненного по схеме опыт/контроль. Учитывались работы, посвящённые ассоциации вариантов гена филагрина FLG с atopическим дерматитом у представителей европеоидной расы. Были изучены около 300 публикаций, взятых в базах данных сети интернет MedLine и PubMed. Почти из трёхсот публикаций, посвящённых анализу полиморфизмов гена филагрина с atopическим дерматитом, принятым критериям соответствовали 32 (10,7%). Среди них по полноте представленного материала для мета-анализа были отобраны десять (3,3%). Результаты в отобранных десяти статьях представлены с неодинаковой полнотой, поэтому были проведены предварительные расчёты, полученные значения (табл. 1) отмечены звёздочкой (*). Связь делеции с atopическим дерматитом оценивали по показателю отношение шансов (OR – odds ratio), который рассчитывали по формуле (Armitage, Berry, 1994):

$$OR = \frac{ad}{bc}, \quad (1)$$

где a – число больных носителей делеции, b – число больных без делеции, c – число здоровых с делецией, d – число здоровых без делеции, $n = a + b + d + c$ – размер выборки.

Находили натуральный логарифм ($\ln OR$) выборочного OR, статистическую ошибку ($S_{\ln OR}$) которого рассчитывали по формуле:

$$S_{\ln OR} = \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}} \quad (2)$$

Доверительный интервал (95% ДИ) для $\ln OR$ определяли по формуле:

$$\ln OR \pm 2S_{\ln OR} \quad (3)$$

Доверительный интервал OR находили путём экспонирования границ доверительного интервала $\ln OR$ ($\exp \ln OR$). Мета-анализ выполнен методом Мантела–Хэнзела (Armitage, Berry, 1994; Фейгин, 1999; Huedo-Medina et al., 2006). Общий показатель отношения шансов \hat{OR}_{MN} вычислен по формуле:

$$\hat{OR}_{MN} = \frac{\sum_{i=1}^k \left(\frac{a_i d_i}{n_i} \right)}{\sum_{i=1}^k \left(\frac{b_i c_i}{n_i} \right)}, \quad (4)$$

где \hat{OR}_{MN} – взвешенное среднее отношения шансов по группам, a_i , b_i , c_i , d_i – число объектов в отдельных группах с характеристиками – как в формуле 1, n_i – размеры групп, k – число групп, включённых в мета-анализ, Σ – знак суммирования.

Таблица 1.
Частоты генотипов и отношения шансов для населения Европы и Америки по связи делеции *2282del4* гена *FLG* с атопическим дерматитом

Автор, год	Страна	Больные				Здоровые				OR	95% ДИ
		N	<i>2282del4</i>		wt	N	<i>2282del4</i>		wt		
			n	%			n	%			
Palmer et al., 2006	Ирландия	52	14	26,9*	38	186	4	2,2*	182	16,8*	5,23 – 53,68*
Hubiche et al., 2007	Франция	99	17	17,2*	82	102	2	2,0*	100*	10,37	2,26 – 47,61
Giardina et al., 2008	Италия	356*	3	0,8	353	420*	2	0,5	418	1,78*	0,30 – 10,67*
Rogers et al., 2008	США	180*	15	8,3*	165	449*	21	4,7*	428	1,85	0,93 – 3,68
Gao et al., 2009	США	273*	43	15,8*	230	156*	5	3,2	151	5,6	2,17 – 14,47
Greisenegger et al., 2010	Австрия	462	68	14,7*	394	402	14	3,5*	388	4,78	2,65 – 8,65
Lesiak et al., 2011	Польша	163	34	20,9*	129*	204	9	3,1	195*	5,76	1,33 – 24,53*
Poninska et al., 2011	Польша	271	16	5,9	255*	1865	59	3,2	1806*	1,92	1,07 – 3,42
Carson et al., 2012	Дания	170	26	15,3	144*	212	15	7,1	197*	2,37*	1,21 – 4,64
Зуева и др., 2013	Украина	51	13	25,5	38	96	1	1,0	95	32,5	3,94 – 268,0*

Примечание: N – всего обследованных, n – число носителей мутации, wt (wild type) – число носителей нормального гомозиготного генотипа, OR – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал, * – показатели, рассчитанные в ходе мета-анализа.

Для оценки гетерогенности использованы тест Кохрана Q и критерий I² (inconsistency). Рассчитан критерий χ^2 для тестирования исследований на гетерогенность, определено среднее взвешенное значение отношения шансов из всех исследований и доверительный интервал, все результаты отображены графически. Для статистических расчётов использовалась компьютерная программа StatsDirect 2.7.9.

Результаты и обсуждение

Делеция *2282del4* – одна из наиболее изученных мутаций гена *FLG*, локализованная в его третьем экзоне. Мутация представляет собой делецию четырёх нуклеотидов, сдвигающую рамку считывания. В разных популяциях эти мутации проявляют неодинаковую ассоциацию с кожными заболеваниями (Smith et al., 2006), что вообще типично для заболеваний мультифакторной природы. Результаты в отобранных десяти статьях представлены с неодинаковой полнотой, поэтому были дополнены дополнительными расчётами. Полученные значения введены в таблицу (табл. 1), помечены звёздочкой (*) и использованы для вычисления общего показателя отношения шансов OR. Эти расчёты показали, что некоторые из приведённых статистик являются результатом грубых округлений. Так, в исследовании Rogers et al. (2008) статистически не значимый показатель OR=1,85 был округлён до 2,00, что формально привело к статистически значимому результату и дало основание сделать заключение об ассоциации, что не соответствует действительности (табл. 1).

Значение отношения шансов в изучаемых работах варьирует от 1,78 (Giardina et al., 2008) до 32,5 (Зуева и др., 2013). В двух исследованиях (Giardina et al., 2008 и Rogers et al., 2008) 95% доверительный интервал включает единицу, что свидетельствует о статистически не значимой ассоциации.

На графике (рис. 1) хорошо видны объём выборок, размер эффекта и доверительные интервалы. В обоих случаях, как в графике для модели фиксированных, так и в графике для модели случайных эффектов, значения отношения шансов не велики и близки между собой (3,93 и 4,29

соответственно). Наряду с этим размеры доверительных интервалов сильно варьируют (4,4 и 1,97) и отличаются в 2,23 раза.

Таблица 2.

Результаты мета-анализа: расчёт размера эффекта

Статистика	Значение	95% ДИ	P
Q	27,14		0,0013
I ²	66,8%	20,50% – 81,40%	
OR(случ.)	4,29	2,62 – 7,02	<0,0001
OR _{МН}	3,93	3,07 – 5,04	<0,0001

Примечание: Q – критерий Кохрана, I² – критерий для расчёта гетерогенности, OR(случ.) – отношение шансов для модели случайных эффектов, OR_{МН} – отношение шансов для модели фиксированных эффектов, 95% ДИ – доверительный интервал, p – уровень значимости.

Odds ratio meta-analysis plot [fixed effects]

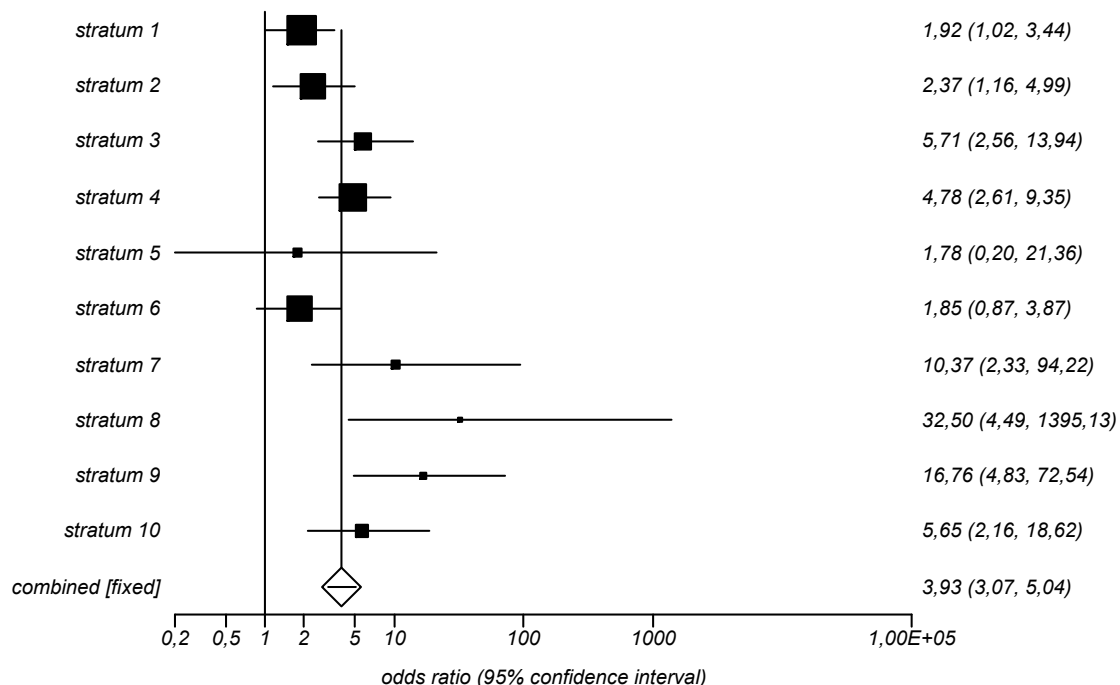


Рис. 1. Графическое отображение мета-анализа отношения шансов (stratum 1–10 – публикации, взятые в мета-анализ, правая колонка – OR (95% ДИ), combined – взвешенное среднее, итоговое отношения шансов)

Таким образом, для представителей европейской расы на высоком уровне значимости доказана ассоциация atopического дерматита с делецией 2282del4 гена филаггрина.

Полученными статистическими оценками можно пользоваться в генетическом прогнозировании. Тем не менее, необходимо учитывать региональные особенности. Так, в славянском населении восточной Украины выявлено наиболее высокое значение показателя отношения шансов (OR=32,5). При этом чувствительность метода относительно невелика, но высока специфичность и прогностическая ценность положительного результата. Отрицательный результат при генотипировании на делецию 2282del4 с большой вероятностью указывает на малые шансы проявления заболевания. Чувствительность метода тестирования на предрасположенность к atopическому дерматиту составляет 23,5%, специфичность – 99%, прогностическая ценность положительного и отрицательного результата соответственно 92,3 и 70,9%.

Выводы

Было изучено около 300 публикаций, из которых для мета-анализа отобрано 10 статей. Значение OR в отобранных работах варьирует от 1,78 до 32,5. Мета-анализ данных десяти публикаций с использованием метода Мантела–Хензела дал следующие результаты: значение среднего отношения шансов для модели фиксированных эффектов составило 3,93, для модели случайных эффектов – 4,29. На высоком уровне значимости доказана ассоциация атопического дерматита с делецией *2282del4* гена филаггрина для представителей европейской расы.

Список литературы

- Зуева М.И., Парфёнова Д.О., Атраментова Л.А. Однонуклеотидный и инсерционно-делеционный полиморфизм гена *FLG* человека при кожных заболеваниях // VIII Міжн. наук. конф.: Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2013. (в печати) /Zuyeva M.I., Parfenova D.O., Atramentova L.A. Odnonukleotidnyy i insertsiionno-deletsiionnyy polimorfizm gena *FLG* cheloveka pri kozhnykh zabolevaniyakh // VIII Mizhn. nauk. konf.: Faktory eksperymental'noi evolyutsii organizmiv. – 2013. (in press)
- Фейгин В.Л. Основы мета-анализа: теория и практика // Международный журнал медицинской практики. – 1999. – Т.7. – С. 3–7. /Feygin V.L. Osnovy meta-analiza: teoriya i praktika // Mezhdunarodnyy zhurnal meditsinskoy praktiki. – 1999. – Т.7. – С. 3–7.
- Armitage P., Berry G. Statistical Methods in Medical Research. Third edition. – Blackwel, 1994. – 620p.
- Carson C.G., Rasmussen M.A., Thyssen J.P. et al. Clinical presentation of atopic dermatitis by filaggrin gene mutation status during the first 7 years of life in a prospective cohort study // PLoS ONE. – 2012. – Vol.7: e48678.
- Gao P.S., Rafaels N.M., Hand T. et al. Filaggrin mutations that confer risk of atopic dermatitis confer greater risk for eczema herpeticum // J. Allergy Clin. Immunol. – 2009. – Vol.124. – P. 507–513.
- Giardina E., Paolillo N., Sinibaldi C., Novelli G. R501X and 2282del4 filaggrin mutations do not confer susceptibility to psoriasis and atopic dermatitis in Italian patients // Dermatology. – 2008. – Vol.216. – P. 83–84.
- Greisenegger E., Novak N., Maintz L. et al. Analysis of four prevalent filaggrin mutations (R501X, 2282del4, R2447X and S3247X) in Austrian and German patients with atopic dermatitis // JEADV 2010. – Vol.24. – P. 607–610.
- Hubiche T., Ged C., Benard A. et al. Analysis of SPINK 5, KLK 7 and FLG genotypes in a French atopic dermatitis cohort // Acta Derm. Venereol. – 2007. – Vol.87, №6. – P. 499–505.
- Huedo-Medina T.B., Sánchez-Meca J., Marín-Martínez F., Botella J. Assessing heterogeneity in meta-analysis: Q statistic or I² index? // CHIP Documents. – 2006. – P.19.
- Lesiak A., Kuna P., Zakrzewski M. et al. Combined occurrence of filaggrin mutations and IL-10 or IL-13 polymorphisms predisposes to atopic dermatitis // Exp. Dermatol. – 2011. – Vol.20. – P. 491–495.
- Palmer C.N., Irvine A.D., Terron-Kwiatkowski A., Zhao Y. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis // Nat. Genet. – 2006. – Vol.38, №2. – P. 441–446.
- Poninska J., Samolinski B., Tomaszewska A. et al. Filaggrin gene defects are independent risk factors for atopic asthma in a polish population: a study in ECAP cohort // PLoS ONE. – 2011. – Vol.6 (2): e16933.
- Rogers A.J., Celedón J.C., Lasky-Su J.A. et al. Filaggrin mutations confer susceptibility to atopic dermatitis but not to asthma // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008. – Vol.120. – P.1332–1337.
- Smith F.J., Irvine A.D., Terron-Kwiatkowski A. et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris // Nat. Genet. – 2006. – Vol.38. – P. 337–342.

Представлено: О.В.Філіпцова / Presented by: O.V.Philipstsova

Рецензент: С.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 02.04.2013