

# Роль генов иммунного ответа в развитии сахарного диабета 2 типа

**Кочетова О. В.<sup>1</sup>**

*к.б.н., старший научный сотрудник*

**Авзалетдинова Д. Ш.<sup>2</sup>**

*к.м.н., доцент, кафедра эндокринологии*

**Корытина Г. Ф.<sup>1</sup>**

*д.б.н., профессор, главный научный сотрудник*

**Моругова Т. В.<sup>2</sup>**

*д.м.н., профессор, зав. кафедрой эндокринологии*

**Бобоедова О. В.<sup>2</sup>**

*врач-ординатор, кафедра эндокринологии*

*1 – Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН, Уфа, Россия*

*2 – ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Уфа, Россия*

**Автор для корреспонденции:** Авзалетдинова Диана Шамилевна: **e-mail:** [hypocrat@mail.ru](mailto:hypocrat@mail.ru)

**Финансирование.** Исследование поддержано Российским научным фондом (№22-25-00010).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) – многофакторное хроническое заболевание, развивающееся в том числе вследствие инсулинорезистентности. Одной из причин резистентности к инсулину является наличие хронического воспаления. Целью нашего исследования явился анализ полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов и их рецепторов (ген рецептора суперсемейства 1В фактора некроза опухоли альфа *TNFRSF1B*, гены субъединиц А и В интерлейкина 12 *IL12A*, *IL12B*) и гена С-реактивного белка (*CRP*) с развитием СД2 у татар. Маркером риска СД2 являются гомозиготы по редкому аллелю А и гетерозиготы *GA* локуса *rs568408* гена *IL12A* ( $P_{FDR}=0.00005$ ,  $OR=5.28$ ). У носителей генотипа *CC* гена *IL12B* (*rs3212227*) выявлено повышение показателей гликозилированного гемоглобина HbA1 ( $P=0.0017$ ) и глюкозы крови натощак ( $P=0.03$ ).

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, воспаление, С-реактивный белок, провоспалительные цитокины

**doi:**

**Для цитирования:**

## Введение

Сахарный диабет 2 (СД2) типа широко распространенное заболевание среди лиц старше 40 лет. Большую роль в развитии СД2 типа играет наследственный фактор [1]. Чаще остальных заболевание развивается у лиц с ожирением или избыточной массой тела. В настоящее время известно более чем 100 генетических маркеров, обуславливающих заболевание.

Одной из основных причин СД2 является инсулинорезистентность, возникающая, в том числе, в результате хронического воспаления жировой ткани. До недавнего времени причиной подобного воспаления считался повышенный уровень глюкозы, однако последние данные показывают, что гипергликемия лишь усугубляет уже имеющееся вялотекущее воспаление. Согласно новым представлениям, в жировой ткани длинноцепочечные жирные кислоты активируют выработку цитокинов Th17-лимфоцитами, что запускает провоспалительный оксидативный стресс и воспаление [2]. Дифференцировка Т-лимфоцитов в Th17-лимфоциты происходит при участии интерлейкина-12 [3].

При СД2 в крови повышается содержание маркеров воспалительного процесса: С-реактивного белка (CRP), некоторых цитокинов, например, фактора некроза опухоли альфа (TNFA) [4]. Kahn S.E., et al. (2006) было показано, что CRP проявляет себя в качестве биомаркера риска сердечно-сосудистых заболеваний, также этот белок имеет прогностическое значение при определении прогрессирования СД2, резистентности к инсулину [5].

Ген рецептора суперсемейства 1В фактора некроза опухоли альфа *TNFRSF1B* в оценке развития риска СД2 изучен слабо, однако установлена связь между уровнем экспрессии *TNFRSF1B* и употреблением глюкозы [6]. Гены *CRP*, гены субъединиц А и В интерлейкина 12 (*IL12A*, *IL12B*) изучали при онкологических заболеваниях, исследований их взаимосвязи с СД2 нет [7].

Анализ данных литературы показывает, что несмотря на большой интерес к системе воспаления при СД2, данные по генам, кодирующим участников воспаления, являются противоречивыми, что создает предпосылку для проведения репликативных исследований в разных популяциях. В настоящем исследовании мы изучили связь между полиморфными вариантами генов маркеров воспаления с риском развития СД2 у татар.

## Цель исследования

Цель нашего исследования – изучить взаимосвязь между полиморфными вариантами генов иммунного ответа *TNFRSF1B rs1061624*, *CRP rs27944521*, *IL12A rs568408*, *rs2243115*, *IL12B rs3212227* с развитием СД2.

## Методика исследования

В исследовании были использованы образцы ДНК 921 неродственных индивидов, проживающих на территории Республики Башкортостан. Из них 501 пациент с СД2 и 420 лиц без клинических и лабораторных признаков диабета. Выборки пациентов и контроля

были сопоставимы по полу, возрасту. Все участники исследования относились к татарской этнической группе. У всех участников было получено информированное согласие на участие в исследовании. Клинический диагноз СД2 определялся согласно диагностическим критериям Всемирной организации здравоохранения (1999-2013 гг.). Антропометрические исследования включали измерение веса, роста, окружности талии и бедер, рассчитывался индекс соотношения объема талии к объему бедер. Исследование одобрено комитетом по этике Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук.

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием фенольно-хлороформной очистки. Полиморфные варианты исследованных генов *TNFRSF1B rs1061624*, *CRP rs27944521*, *IL12A rs568408*, *rs2243115*, *IL12B rs3212227* анализировали при помощи полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием коммерческих наборов с флуоресцентной детекцией (FLASHRTAS) (ООО «Тест-Ген», Россия) и прибора BioRad CFX96 TM («Bio-Rad Laboratories», USA). Флуоресценцию «по конечной точке» и дискриминацию генотипов определяли по протоколу BioRad CFX96 TM, используя программу CFX Manager TM Software.

Размер выборки был рассчитан с помощью программы Quanto v.1.2.4 [8]. Мы изучили 5 полиморфных маркеров 4 генов-кандидатов, при этом использовали наиболее значимые зарегистрированные SNP с высокой частотой минорных аллелей для каждого гена. Размер выборки был достаточным для выявления ассоциации исследуемых SNP и СД2 с мощностью более 80% (мощность 95,5%, распространенность заболевания 3%, ошибка 5,0%). Описание выборки приведено в ранее опубликованной работе [9].

Проверку гипотезы о принадлежности анализируемых выборок проводили с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Проведенный анализ выявил, что все значения не отклонялись от нормального распределения, поэтому при анализе количественных параметров использовали линейный регрессионный анализ. Для оценки взаимосвязи между однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) и количественными параметрами, такими как глюкоза, масса тела и т.д. был проведен линейный регрессионный анализ с помощью PLINK v. 1.07 [10].

Для количественных признаков были рассчитаны средние значения и стандартные отклонения ( $M \pm SD$ ). Частоты качественных признаков сравнивались с помощью Pearson's  $\chi^2$ . Частоты минорных аллелей (MAF) и соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга (HWE), анализ ассоциации с использованием основного аллельного теста и расчет отношения шансов (OR) для редкого аллеля каждого локуса и достоверность межгрупповых различий в частотах аллелей и генотипов (тест  $\chi^2$  для неоднородности выборки и P-значения) были выполнены с помощью PLINK v. 1.07. Различия считались значимыми, если соответствующие им значения P были менее 0,05. Чтобы контролировать частоту ошибок типа I, был рассчитан коэффициент ложного обнаружения (FDR) [11].

## Результаты исследования

Прежде чем проанализировать полиморфные локусы генов-кандидатов на предмет ассоциаций с СД2, мы проверили, соответствует ли распределение частот их генотипов равновесию Харди-Вайнберга (HWE), и оценили частоты минорных аллелей (MAF) в группах пациентов и здоровых лиц (табл. 1).

Данные о распределении частот аллелей и генотипов для рассматриваемых локусов, значимости их различий между группами и значениях отношения шансов, рассчитанных для минорного аллеля каждого локуса, приведены в табл. 2. Для полиморфного маркера *IL12A rs568408* выявлены статистически значимые различия, сохранившиеся при введении поправки на множественность сравнения ( $P_{FDR}$ ), между пациентами с СД2 и здоровыми лицами (табл. 2).

В Таблице 3 представлены данные об ассоциации локуса *rs568408* гена *IL12A* с СД2 в доминантной модели. По локусу *rs568408* гена *IL12A* частота гомозигот по редкому аллелю и гетерозигот среди пациентов достигала 67,1% по сравнению с 52,8% в контроле ( $P=0,00001$ ,  $P_{adj}=0,00001$ ,  $P_{FDR}=0,00005$ ,  $OR=5,28$  (95% CI 3.84-7.27) для доминантной модели, взаимосвязь с СД2 выявлена также и для аддитивной модели ( $P=0,00001$ ,  $P_{adj}=0,00001$ ,  $P_{FDR}=0,00005$ ,  $OR=4,12$  (95% CI 3,25-5,22)).

Таблица 1. Хромосомная локализация и частота аллелей исследованных полиморфных локусов

Ген, полиморфизм	Хромосома, локализация	Аллели, частый/редкий	MAF (контроль)	MAF (СД2)	$P_{HWE}$ (контроль)
TNFRSF1B <i>rs1061624</i>	chr1 12207208	A/G	44,4	48,1	0,06
CRP <i>rs2794521</i>	chr19 48550049	T/C	21,1	21,6	0,44
<i>IL12A rs568408</i>	chr3 159995680	G/A	29,4	40,8	0,19
<i>IL12A rs2243115</i>	chr 3 159988493	T/G	10,6	8,5	0,67
<i>IL12B rs3212227</i>	chr 5 159315942	A/C	20,5	20,5	0,06

Примечания: MAF – частота минорного аллеля (%);  $P_{HWE}$  – соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга.

Следующим этапом исследования было проведение анализа на выявление уровня сцепления linkage disequilibrium (LD) ( $r^2$ ). В нашем исследовании также не было выявлено сцепления между локусами *rs568408* и *rs2243115* гена *IL12A* ( $r^2=0,02$ ).

Проведен анализ количественных показателей, характеризующих СД2, и осложнений СД2 в зависимости от полиморфных вариантов изученных генов-кандидатов. Генотип *CC* гена

*IL12B* (*rs3212227*) ассоциирован с более высокими показателями гликозилированного гемоглобина HbA1 ( $P=0,0017$ ). Для носителей генотипа *CC* уровень HbA1 составил  $9,03\pm 1,05\%$ , для носителей генотипов *AA-AC*  $7,45\pm 0,07\%$ , соответственно. Выявлена ассоциация локуса *rs3212227* гена *IL12B* с уровнем глюкозы ( $P=0,03$ ). У носителей генотипов *AA-AC* уровень глюкозы составил  $7,18\pm 0,14$  ммоль/л, тогда как у носителей генотипа *CC* –  $9,39\pm 1,47$  ммоль/л.

**Таблица 2. Распределение частот генотипов исследуемых полиморфных локусов в группах пациентов с сахарным диабетом 2 типа и здоровых лиц**

Ген, полиморфизм	Генотип	Контроль (N=420) n (%)	СД2 (N=502) n (%)	OR (95% CI)	P/P <sub>FDR</sub>
TNFRSF1B <i>rs1061624</i>	AA	120 (28,57)	125 (24,95)	1,00	0,24/0,44
	GA	227 (54,05)	270 (53,89)	1,20 (0,89-1,61)	
	GG	73 (17,38)	106 (21,16)	0,91 (0,64-1,27)	
CRP <i>rs27944521</i>	TT	259 (61,67)	303 (60,48)	1,00	0,90/0,90
	CT	145 (34,52)	180 (35,93)	1,05 (0,80-1,41)	
	CC	16 (3,81)	18 (3,59)	0,94 (0,45-1,88)	
<i>IL12A</i> <i>rs568408</i>	GG	198 (47,14)	165 (32,93)	1,00	<b>0,00001/ 0,0005</b>
	GA	197 (46,9)	263 (52,50)	1,82 (1,9-2,38)	
	AA	25 (5,95)	73 (14,57)	2,71 (1,68-4,33)	
<i>IL12A</i> <i>rs2243115</i>	TT	334 (79,52)	421 (84,03)	1,00	0,14/0,30
	TG	83 (19,76)	75 (14,97)	0,72 (0,49-1,06)	
	GG	3 (0,71)	5 (1,00)	1,07 (0,18-6,43)	
<i>IL12B</i> <i>rs3212227</i>	AA	271 (64,52)	340 (65,26)	1,00	0,77/0,85
	CA	126 (30,0)	148 (28,41)	0,93 (0,69-1,25)	
	CC	23 (5,48)	33 (6,33)	0,43 (0,21-0,89)	

Примечания: n – число лиц с данным генотипом; N – число лиц в выборке; P – статистическая значимость различий; P<sub>FDR</sub> – статистическая значимость различий с учетом поправки на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал; жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

**Таблица 3. Результаты анализа ассоциации полиморфного локуса *rs568408* гена *IL12A* с развитием сахарного диабета 2 типа в доминантной модели**

Генотип	Контроль (N=420), n (%)	СД2 (N=502), n (%)	OR (95% CI)	P	P <sub>adj</sub>	P <sub>FDR</sub>
GG	198 (47,2)	165 (32,9)	1,00	<b>0,00001</b>	<b>0,00001</b>	<b>0,00005</b>
GA-AA	222 (52,8)	336 (67,1)	5,28 (3,84-7,27)			

Примечания: n – число лиц с данным генотипом; N – число лиц в выборке; P – статистическая значимость различий; P<sub>adj</sub> – вероятность нулевой гипотезы с поправкой на возраст, пол и индекс массы тела; P<sub>FDR</sub> – статистическая значимость различий с учетом поправки на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал; жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

## Обсуждение

Был проведен анализ ассоциации генов иммунного ответа: *TNFRSF1B rs1061624*, *CRP rs27944521*, *IL12A rs568408*, *rs2243115*, *IL12B rs3212227* с риском СД2. Эти гены ответственны за биологические пути развития СД2. В доступной литературе данных об исследованиях изученных нами генов во взаимосвязи с СД2 обнаружено не было.

Нами была установлена ассоциация локуса *rs568408* гена *IL12A* с развитием СД2. Аллель А был идентифицирован в качестве маркера риска. По данным литературы, однонуклеотидный полиморфизм *rs568404* гена *IL12A* ассоциирован с риском развития астмы, тиреоидита, а также положительно коррелирует с уровнем интерлейкина-35 в сыворотке крови [12]. Полученные нами ассоциации полиморфного локуса *rs3212227* гена *IL12B* с уровнями глюкозы и HbA1c согласуются с работами других исследователей. Для носителей аллеля С показан риск развития метаболического синдрома, сердечно-сосудистых заболеваний, рассеянного склероза [13,14]. Однонуклеотидный полиморфизм *rs3212227* ассоциирован с уровнями интерлейкина-12 и/или интерлейкина-35 как у пациентов с различными заболеваниями, так и у здоровых людей [13].

Результаты нашего исследования указывают на то, что *IL12B rs3212227* и *IL12A rs568408* могут представлять собой важный фактор риска заболеваний, связанных с хроническим системным воспалением, таких как СД2 и его осложнения. Полученные результаты представляют интерес для понимания молекулярных механизмов развития СД2.

Исследование поддержано Российским научным фондом (№22-25-00010).

## Литература

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., и др. Сахарный диабет 2 типа у взрослых. *Сахарный диабет* 2020; 23(2S): 4-102, doi: 10.14341/DM12507
2. Nicholas D.A., Proctor E.A., Agrawal M. et al. Fatty Acid Metabolites Combine with Reduced  $\beta$  Oxidation to Activate Th17 Inflammation in Human Type 2 Diabetes. *Cell Metab.* 2019; 30(3): 447-461.e5, doi: 10.1016/j.cmet.2019.07.004
3. Teng M.W., Bowman E.P., McElwee J.J., Smyth M.J., Casanova J.L., Cooper A.M., Cua D.J. IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nat Med.* 2015; 21(7): 719-29, doi: 10.1038/nm.3895
4. Pedula K.L., Nichols G.A., Hillier T.A. Diabetes is associated with inflammation independent of obesity: a community-based sample of routine care patients. *Diabetologia* 2007; 50: S118. Abstr. 0267.
5. Kahn S.E., Zinman B., Haffner S.M., et al. ADOPT Study Group. Obesity is a major determinant of the association of C-reactive protein levels and the metabolic syndrome in type 2 diabetes. *Diabetes* 2006; 55(8): 2357-2364, doi: 10.2337/db06-0116

6. Martínez-García M.Á., Moncayo S., Insenser M., et al. Metabolic Cytokines at Fasting and During Macronutrient Challenges: Influence of Obesity, Female Androgen Excess and Sex. *Nutrients* 2019; 11(11): 2566, doi: 10.3390/nu11112566
7. Roszak A., Mostowska A., Sowińska A. et al. Contribution of IL12A and IL12B polymorphisms to the risk of cervical cancer. *Pathol Oncol Res.* 2012; 18(4): 997-1002, doi: 10.1007/s12253-012-9532-x
8. Gauderman W.J. Sample size requirements for association studies of gene-gene interaction. *Am J Epidemiol.* 2002; 155(5): 478-84, doi: 10.1093/aje/155.5.478
9. Kochetova O.V., Avzaletdinova D.S., Korytina G.F., Morugova T.V., Mustafina O.E. The association between eating behavior and polymorphisms in GRIN2B, GRIK3, GRIA1 and GRIN1 genes in people with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep.* 2020; 47(3): 2035-2046, doi: 10.1007/s11033-020-05304-x
10. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet.* 2007; 81(3): 559-75, doi: 10.1086/519795
11. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)* 1995; 57(1): 289-300.
12. de Moura E.L., Dos Santos A.C., et al. Association of Polymorphisms in Cytokine genes with susceptibility to Precancerous Lesions and Cervical Cancer: A systematic review with meta-analysis. *Immunol Invest.* 2021; 50(5): 492-526, doi: 10.1080/08820139.2020.1778023
13. Vázquez-Vázquez C., Posadas-Sánchez R., Fragoso J.M., et al. IL-12B polymorphisms are associated with the presence of premature coronary artery disease and with cardiovascular risk factors: the genetics of atherosclerotic disease Mexican Study. *DNA and Cell Biology* 2020; 39(7): 1347-1355.
14. Wei P., Kou W., Zhang C. et al. Genetic variations in interleukin-12B in allergic rhinitis. *Immunol Res.* 2016; 64(1): 329-36, doi: 10.1007/s12026-015-8758-6

## The Role of the Genes of Immune Response in the Development of Type 2 Diabetes

**Kochetova O. V.<sup>1</sup>**

*PhD (Biology), Senior Researcher*

**Avzaletdinova D. S.<sup>2</sup>**

*MD, PhD, Assistant Professor, Chair for Endocrinology*

**Korytina G. F.<sup>1</sup>**

*Doctor of Biology, Professor, Chief Researcher*

**Morugova T. V.<sup>2</sup>**

*Doctor of Medicine, Professor, Head, Chair for Endocrinology*

**Boboedova O. V.<sup>2</sup>**

*Resident Doctor, Chair for Endocrinology*

*1 – Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation*

*2 – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Bashkir State Medical University” of Healthcare Ministry of the Russian Federation, Ufa, Russian Federation*

**Corresponding Author:** Avzaletdinova Diana; **e-mail:** hypocrat@mail.ru

**Conflict of interest.** None declared.

**Funding.** The study was supported by the Russian Science Foundation (No. 22-25-00010).

## Abstract

Type 2 diabetes mellitus (T2D) is a complex chronic disease resulting from a lot of factors, including insulin resistance. One of the causes of the insulin resistance is the presence of chronic inflammation. This study aimed to analyze polymorphisms of genes of pro-inflammatory cytokines and their receptors (the gene coding tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B *TNFRSF1B*, the genes coding A and B subunits of interleukin 12 *IL12A*, *IL12B*) and C-reactive protein (*CRP*) with T2D in Tatars. The single nucleotide polymorphism (SNP) *rs568408* in *IL12A* ( $P_{FDR}=0.00005$ ,  $OR=5.28$ ) was significantly associated with type 2 diabetes. Regression analysis revealed that *rs3212227* in *IL12B* was associated with the glycated hemoglobin HbA1c level and fasting blood glucose ( $P=0.0017$  and  $P=0.03$ , respectively).

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus, inflammation, C-reactive protein, pro-inflammatory cytokines

## References

1. Dedov I.I., Shestakova M.V., Majorov A.Yu., et al. Saharnyj diabet 2 tipa u vzroslyh. [Type 2 diabetes mellitus in adults.] *Saharnyj diabet [Diabetes mellitus]* 2020; 23(2S): 4-102, doi: 10.14341/DM12507 (In Russ.)
2. Nicholas D.A., Proctor E.A., Agrawal M. et al. Fatty Acid Metabolites Combine with Reduced  $\beta$  Oxidation to Activate Th17 Inflammation in Human Type 2 Diabetes. *Cell Metab.* 2019; 30(3): 447-461.e5, doi: 10.1016/j.cmet.2019.07.004
3. Teng M.W., Bowman E.P., McElwee J.J., Smyth M.J., Casanova J.L., Cooper A.M., Cua D.J. IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nat Med.* 2015; 21(7): 719-29, doi: 10.1038/nm.3895
4. Pedula K.L., Nichols G.A., Hillier T.A. Diabetes is associated with inflammation independent of obesity: a community-based sample of routine care patients. *Diabetologia* 2007; 50: S118. Abstr. 0267.
5. Kahn S.E., Zinman B., Haffner S.M., et al. ADOPT Study Group. Obesity is a major determinant of the association of C-reactive protein levels and the metabolic syndrome in type 2 diabetes. *Diabetes* 2006; 5(8): 2357-2364, doi: 10.2337/db06-0116
6. Martínez-García M.Á., Moncayo S., Insenser M., et al. Metabolic Cytokines at Fasting and During Macronutrient Challenges: Influence of Obesity, Female Androgen Excess and Sex. *Nutrients* 2019; 11(11): 2566, doi: 10.3390/nu11112566
7. Roszak A., Mostowska A., Sowińska A. et al. Contribution of IL12A and IL12B polymorphisms to the risk of cervical cancer. *Pathol Oncol Res.* 2012; 18(4): 997-1002, doi: 10.1007/s12253-012-9532-x
8. Gauderman W.J. Sample size requirements for association studies of gene-gene interaction. *Am J Epidemiol.* 2002; 155(5): 478-84, doi: 10.1093/aje/155.5.478
9. Kochetova O.V., Avzaletdinova D.S., Korytina G.F., Morugova T.V., Mustafina O.E. The association between eating behavior and polymorphisms in GRIN2B, GRIK3, GRIA1 and GRIN1 genes in people with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep.* 2020; 47(3): 2035-2046, doi: 10.1007/s11033-020-05304-x
10. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet.* 2007; 81(3): 559-75, doi: 10.1086/519795
11. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)* 1995; 57(1): 289-300.



12. de Moura E.L., Dos Santos A.C., et al. Association of Polymorphisms in Cytokine genes with susceptibility to Precancerous Lesions and Cervical Cancer: A systematic review with meta-analysis. *Immunol Invest.* 2021; 50(5): 492-526, doi: 10.1080/08820139.2020.1778023
13. Vázquez-Vázquez C., Posadas-Sánchez R., Fragoso J.M., et al. IL-12B polymorphisms are associated with the presence of premature coronary artery disease and with cardiovascular risk factors: the genetics of atherosclerotic disease Mexican Study. *DNA and Cell Biology* 2020; 39(7): 1347-1355.
14. Wei P., Kou W., Zhang C. et al. Genetic variations in interleukin-12B in allergic rhinitis. *Immunol Res.* 2016; 64(1): 329-36, doi: 10.1007/s12026-015-8758-6