

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААН, СПОРТЫН ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

Гар бичмэлийн эрхтэй©

БАЯРМААГИЙН АГАРЗАНДАН

**УУШГИНЫ АРХАГ БӨГЛӨРӨЛТ ӨВЧНИЙ ҮЕД *CHRNA5*, *CHRNA3*
ГЕНИЙН ПОЛИМОРФИЗМЫГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН**

Е 09120109 Молекул биологи

Анагаах Ухааны магистрын зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл

Улаанбаатар хот

2018 он

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААН, СПОРТЫН ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

БАЯРМААГИЙН АГАРЗАНДАН

**УУШГИНЫ АРХАГ БӨГЛӨРӨЛТ ӨВЧНИЙ ҮЕД *CHRNA5*, *CHRNA3*
ГЕНИЙН ПОЛИМОРФИЗМЫГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН**

Эрдэм шинжилгээний ажлын удирдагч

АУ-ны доктор Ж.Жамбалдорж

Эрдэм шинжилгээний ажлын зөвлөх:

АУ-ны доктор, профессор Ж.Сарантуяа

Эрдэм шинжилгээний ажлын шүүмжлэгч:

АУ-ны доктор, дэд профессор Ж.Мөнхцэцэг

Улаанбаатар хот

2018 он

Товч хураангуй

Түлхүүр үг:

Никотины ацетилхолин рецептор, нэг нуклеотидын полиморфизм

Сэдвийн нэр:

Уушгины архаг бөглөрөлт өвчний үед *CHRNA5*, *CHRNA3* генийн полиморфизмыг тодорхойлсон дүн

Үндэслэл:

Уушгины архаг бөглөрөлт өвчин (УАБӨ) нь гадаад болон дотоод хүчин зүйлсийн нөлөөгөөр үүсдэг. Геном даяархи харьцуулалтын судалгаагаар уушгины хавдар, УАБӨ үүсэх эрсдэлийг нэмэгдүүлдэг никотин ацетилхолин рецепторын (*CHRNA5*, *CHRNA3*) генийн зарим хувилбаруудыг тогтоосон. *CHRNA5*, *CHRNA3* генийн зарим полиморфизмын үед никотин ацетилхолин рецепторын үйл ажиллагаанд өөрчлөлт орж агонист бодист үзүүлэх хариу урвал буурах, үрэвслийн үйл явцыг сэдээж, хавдрын өсөлтийг дэмждэг хэмээн таамаглаж байна.

Зорилго:

CHRNA5 генийн rs16969968, *CHRNA3* генийн rs1051730 полиморфизмыг УАБӨ-тэй холбон судлах

Судалгааны хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй:

Бид энэхүү судалгааг аналитик судалгааны тохиолдол хяналтын загвар ашиглан хийсэн. Судалгааг Улсын Нэгдүгээр Төв Эмнэлэг (УНТЭ), Төрийн Тусгай Албан Хаагчдын Нэгдсэн Эмнэлгийн (ТТАХНЭ), Уушги судлалын тасаг, АШУҮИС-ийн Молекул биологи Удамзүйн тэнхимийн сургалт судалгааны лабораторийг түшиглэн 2016 оны 10 сарын 30-наас 2017 оны 11 сарын 30-ны хооронд хийж гүйцэтгэсэн. Судалгааны тохиолдлын бүлэгт УАБӨ-тэй 100 хүнийг, хяналтын бүлэгт эрүүл 100 хүнийг оношлон хамруулсан. *CHRNA5*, *CHRNA3* генийн полиморфизмыг тодорхойлохдоо полимеразын гинжин урвалд суурилсан RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) аргыг ашигласан. Судалгааны мэдээлэлд боловсруулалт хийхдээ Microsoft Office Excel 2010, Stata 12, SNPalyze зэрэг программуудыг ашигласан.

Үр дүн:

Судалгаанд хамрагдсан тохиолдол болон хяналтын бүлгийн хүмүүст *CHRNA5*, *CHRNA3* генийн полиморфизмын аллель болон генотипийн давтамжийг харьцуулан судлахад судалгааны хоёр бүлэгт статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай илэрсэн. *CHRNA5* генийн гетерозигот AG генотиптэй хүмүүс УАБӨ-өөр өвчлөх эрсдэл нь гомозигот GG генотиптэй хүмүүстэй харьцуулахад 2.34 дахин их байна. (OR=2.34; 95% итгэх интервал 1.24-4.43) Мөн *CHRNA3* генийн гетерозигот AG генотиптэй хүмүүс УАБӨ-өөр өвчлөх эрсдэл нь гомозигот GG генотиптэй хүмүүстэй харьцуулахад 2.20 дахин их байна. (OR=2.20; 95% итгэх интервал 1.09-4.44)

Дүгнэлт:

1. *CHRNA5* генийн rs16969968 полиморфизмын эрсдэлт А аллель судалгааны тохиолдлын бүлэгт өндөр давтамжтай илэрсэн нь УАБӨ-д нөлөөлөх удмын эрсдэлт хүчин зүйл болж байгааг харуулж байна.
2. *CHRNA3* генийн rs1051730 полиморфизмын эрсдэлт А аллель судалгааны тохиолдлын бүлэгт өндөр давтамжтай илэрсэн нь УАБӨ-д нөлөөлөх удмын эрсдэлт хүчин зүйл болж байгааг харуулж байна.
3. *CHRNA3*, *CHRNA5* генийн А-А гаплотипын хослол нь УАБӨ-д дунд зэргийн эрсдэл үүсгэж байна.

Abstract

Keywords:

Nicotine acetylcholine receptor, single nucleotide polymorphisms

Title:

Results of the *CHRNA5* and *CHRNA3* gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease.

Background:

A chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is caused by external and internal factors. Genome-wide association studies (GWAS) showed the genetic variants of nicotine acetylcholine receptor (*CHRNA5*, *CHRNA3*) influences susceptibility to lung cancer and increased risk of COPD. The polymorphism of the *CHRNA5* gene affects to the function of nicotine acetylcholine receptor including decreases of response to agonist substrate, promotes to inflammation and contribution to the cancer growth.

Goal:

To study rs16969968 in *CHRNA5* gene and rs1051730 in *CHRNA3* gene polymorphisms with COPD patients.

Material and methodology:

This is an analytical case control study, which enrolled 100 patients and 100 healthy individuals at the Department of Pulmonology, First General Hospital and the Department of Pulmonology, the Civil Servant's Hospital the Department of Pulmonology, and experiments carried out at the Scientific Research Laboratory, Department of Molecular Biology and Genetic, MNUMS, between 30th Oct, 2016 to 30th Nov, 2017. Determination of *CHRNA5* and *CHRNA3* gene polymorphisms were performed by PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism) method. The results determined in 2% gel electrophoresis. Statistics were processed with Microsoft Office Excel 2010, Stata 12 and SNPalyze.

Results:

In study of case and control groups, the allelic and genotypic frequency of *CHRNA5* and *CHRNA3* gene polymorphisms were compared. Individuals with heterozygote AG

genotype of *CHRNA5* gene has 2.34 times higher than people with homozygote GG genotype in COPD risk. (OR=2.34; 95% confidence interval 1.24-4.43) But individuals with heterozygote AG genotype of *CHRNA3* gene has 2.20 times higher than people with homozygote GG genotype in COPD risk. (OR=2.20; 95% confidence interval 1.09-4.44)

Conclusion:

1. A allele of rs16969968 in *CHRNA5* gene showed higher frequency in the case group and identifies as a risk factor for the underlying influence of COPD.
2. A allele of rs1051730 in *CHRNA3* gene showed higher frequency in the case group and identifies as a risk factor for the underlying influence of COPD.
3. A-A haplotype combination of *CHRNA5* and *CHRNA3* gene showed moderate risk for developing COPD.

ГАРЧИГ

ТОВЧ ХУРААНГУЙ

ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ5

ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ7

ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ8

УДИРТГАЛ

Судалгааны ажлын үндэслэл.....9

Судалгааны ажлын зорилго 10

Судалгааны ажлын зорилт 10

Судалгааны ажлын ёс зүй 10

Судалгааны ажлын шинэлэг тал..... 10

Судалгааны ажлын практик ач холбогдол..... 10

Судалгааны үр дүнг хэлэлцүүлсэн байдал 11

Судалгааны ажлыг хэвлүүлсэн байдал 11

НЭГДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭВЛЭЛИЙН ТОЙМ

1.1. Уушгины архаг бөглөрөлт өвчний тодорхойлолт, ангилал..... 12

1.2. Уушгины архаг бөглөрөлт өвчний тархалт 13

1.3. Уушгины архаг бөглөрөлт өвчний эрсдэлт хүчин зүйл 15

1.4. Уушгины архаг бөглөрөлт өвчний эмгэг жам 17

1.5. *CHRNA3*, *CHRNA5* генийн полиморфизм.....20

1.6. Никотин ацетилхолин рецепторын бүтэц, үйл ажиллагаа.....21

ХОЁРДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН БА АРГА ЗҮЙ

2.1. Судалгааны загвар.....25

2.2. Судалгааны хүрээ ба түүвэр.....25

2.3. Судалгааны түүвэрлэлт25

2.4. Судалгааны мэдээ материал цуглуулах арга.....26

2.5. Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн27

2.6. Судалгааны ажлын арга зүй.....28

2.6.1. Сорьц цуглуулах аргачлал.....28

2.6.2. Цуснаас ДНХ ялгах аргачлал.....28

2.6.3. *CHRNA3*, *CHRNA5* генийн бай дарааллыг ПГУ-ын аргаар
олшруулах.....28

2.6.4. *CHRNA3*, *CHRNA5* генийн олширсон бай дарааллыг
рестрикцийн эсгэгээр зүсэх аргачлал.....30

2.6.5. Гель электрофорезийн арга.....31

2.6.6. Нуклеотидын дараалал тогтоох арга	31
2.7. Судалгааны ёс зүй	33
2.8. Үр дүнгийн статистик боловсруулалт	33
ГУРАВДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН.....	
3.1. Судалгаанд оролцогчдын талаарх ерөнхий мэдээлэл	34
3.2. <i>CHRNA5</i> , <i>CHRNA3</i> генийн полиморфизмыг тодорхойлсон дүн	35
3.3. <i>CHRNA5</i> генийн аллель, генотипын давтамжийг тодорхойлсон дүн	37
3.4. <i>CHRNA3</i> генийн аллель, генотипын давтамжийг тодорхойлсон дүн	39
3.5. <i>CHRNA5</i> генийн rs16969968, <i>CHRNA3</i> генийн rs1051730 полиморфизмын гаплотипийн давтамжийг тодорхойлсон дүн	42
ДӨРӨВДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭЛЦЭМЖ.....	43
СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ДҮГНЭЛТ	50
НОМ ЗҮЙ	
ТАЛАРХАЛ	
ХАВСРАЛТ	

НОМ ЗҮЙ

1. Zhang J, Summah H, Zhu YG, Qu JM. Nicotinic acetylcholine receptor variants associated with susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis. *Respir Res.* 2011;12(158):1465-9921.
2. Wen L, Jiang K, Yuan W, Cui W, Li MD. Contribution of Variants in CHRNA5/A3/B4 Gene Cluster on Chromosome 15 to Tobacco Smoking: From Genetic Association to Mechanism. *Mol Neurobiol.* 2016;53(1):472-484.
3. Improgo MR, Scofield MD, Tapper AR, Gardner PD. From smoking to lung cancer: the CHRNA5/A3/B4 connection. *Oncogene.* 2010;29(35):4874-4884.
4. Lococo F, Cesario A, Petracca-Ciavarella L, Granone P, Russo P. Role of CHRNA5-A3 genetic Locus variants and developing drug for chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Med Chem.* 2012;19(34):5863-5870.
5. Pauwels RA, Buist AS, Ma P, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: National Heart, Lung, and Blood Institute and World Health Organization Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD): executive summary. *Respiratory care.* 2001;46(8):798-825.
6. Barczyk A, Pierzchala W. [Diagnostic and treatment of chronic obstructive pulmonary disease based on GOLD statement 2011]. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego.* 2012;33(196):187-192.
7. Brinklov S, Kalko EKV, Surlykke A. Intense echolocation calls from two 'whispering' bats, *Artibeus jamaicensis* and *Macrophyllum macrophyllum* (Phyllostomidae). *J Exp Biol.* 2009;212(1):11-20.
8. Vestbo J, Hurd SS, Rodriguez-Roisin R, Committee GS. [An overview of Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD) (revised 2011)]. *Zhonghua yi xue za zhi.* 2012;92(14):937-938.
9. Cazzola M, Bettoncelli G, Sessa E, Cricelli C, Biscione G. Prevalence of comorbidities in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration; international review of thoracic diseases.* 2010;80(2):112-119.
10. Methvin JN, Mannino DM, Casey BR. COPD prevalence in southeastern Kentucky: the burden of lung disease study. *Chest.* 2009;135(1):102-107.
11. Rosenberg SR, Kalhan R, Mannino DM. Epidemiology of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Prevalence, Morbidity, Mortality, and Risk Factors. *Seminars in respiratory and critical care medicine.* 2015;36(4):457-469.
12. Einhorn PT. National heart, lung, and blood institute-initiated program "interventions to improve hypertension control rates in African Americans": background and implementation. *Circulation Cardiovascular quality and outcomes.* 2009;2(3):236-240.
13. Мөнхбаярлах С. Монгол Улсын Улаанбаатар хот дахь амьсгалын замын архаг өвчнүүдийн тархалт, урьдчилан сэргийлэлт болон хяналтын чиг хандлагыг тодорхойлох судалгааны тайлан 2011:х. 15-18.
14. Эрүүл мэндийн газар. Эрүүл мэндийн үзүүлэлт 2013. Улаанбаатар 2013 он.
15. Teramoto S. 1. COPD pathogenesis from the viewpoint of risk factors. *Internal medicine (Tokyo, Japan).* 2007;46(2):77-79.
16. Bernard S, LeBlanc P, Whittom F, et al. Peripheral muscle weakness in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 1998;158(2):629-634.
17. Hammond EC, Seidman H. Smoking and cancer in the United States. *Preventive medicine.* 1980;9(2):169-174.
18. Roy SH PDJVH. Molecular origins of lung cancer. *The new england journal of medicine.* 2008.
19. Shimokawa H. Editorial Statistics and Best Reviewers Award for 2015. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society.* 2016;80(2):285-288.
20. Hersh CP, Hokanson JE, Lynch DA, et al. Family history is a risk factor for COPD. *Chest.* 2011;140(2):343-350.

21. Putcha N, Barr RG, Han MK, et al. Understanding the impact of second-hand smoke exposure on clinical outcomes in participants with COPD in the SPIROMICS cohort. *Thorax*. 2016.
22. Assad NA, Kapoor V, Sood A. Biomass smoke exposure and chronic lung disease. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2016;22(2):150-157.
23. Tsurutani J, Castillo SS, Brognard J, et al. Tobacco components stimulate Akt-dependent proliferation and NFkappaB-dependent survival in lung cancer cells. *Carcinogenesis*. 2005;26(7):1182-1195.
24. Li R, Zhou R, Zhang J. Function of PM2.5 in the pathogenesis of lung cancer and chronic airway inflammatory diseases. *Oncology letters*. 2018;15(5):7506-7514.
25. Waller RE, Brooks AG, Adler MW. The 1952 fog cohort study. *British journal of preventive & social medicine*. 1973;27(1):68-69.
26. Lawther PJ, Waller RE. Trends in urban air pollution in the United Kingdom in relation to lung cancer mortality. *Environmental health perspectives*. 1978;22:71-73.
27. Stone IS, Barnes NC, James WY, et al. Lung Deflation and Cardiovascular Structure and Function in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. A Randomized Controlled Trial. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2016;193(7):717-726.
28. Spurzem JR, Rennard SI. Pathogenesis of COPD. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2005;26(2):142-153.
29. Tan WC, Sin DD, Bourbeau J, et al. Characteristics of COPD in never-smokers and ever-smokers in the general population: results from the CanCOLD study. 2015;70(9):822-829.
30. Devereux G. ABC of chronic obstructive pulmonary disease. Definition, epidemiology, and risk factors. *BMJ (Clinical research ed)*. 2006;332(7550):1142-1144.
31. Liguori I, Russo G, Curcio F, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*. 2018;13:757-772.
32. Sheridan JA, Zago M, Nair P, et al. Decreased expression of the NF-kappaB family member RelB in lung fibroblasts from Smokers with and without COPD potentiates cigarette smoke-induced COX-2 expression. *Respiratory research*. 2015;16:54.
33. Aminuddin F, Akhabir L, Stefanowicz D, et al. Genetic association between human chitinases and lung function in COPD. *Human genetics*. 2012;131(7):1105-1114.
34. Kim WJ, Lee SD. Candidate genes for COPD: current evidence and research. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2015;10:2249-2255.
35. Kuryatov A, Berrettini W, Lindstrom J. Acetylcholine receptor (AChR) alpha5 subunit variant associated with risk for nicotine dependence and lung cancer reduces (alpha4beta2)(2)alpha5 AChR function. *Molecular pharmacology*. 2011;79(1):119-125.
36. Saccone SF, Hinrichs AL, Saccone NL, et al. Cholinergic nicotinic receptor genes implicated in a nicotine dependence association study targeting 348 candidate genes with 3713 SNPs. *Hum Mol Genet*. 2007;16(1):36-49.
37. Pandey N, Pal S, Sharma LK, Guleria R, Mohan A, Srivastava T. SNP rs16969968 as a Strong Predictor of Nicotine Dependence and Lung Cancer Risk in a North Indian Population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;18(11):3073-3079.
38. O'Neill HC, Wageman CR, Sherman SE, Grady SR, Marks MJ, Stitzel JA. The interaction of the Chrna5 D398N variant with developmental nicotine exposure. *Genes Brain Behav*. 2018;24(10):12474.
39. Wojas-Krawczyk K, Krawczyk P, Biernacka B, et al. The polymorphism of the CHRNA5 gene and the strength of nicotine addiction in lung cancer and COPD patients. *Eur J Cancer Prev*. 2012;21(2):111-117.
40. Fowler CD, Lu Q, Johnson PM, Marks MJ, Kenny PJ. Habenular alpha5 nicotinic receptor subunit signalling controls nicotine intake. *Nature*. 2011;471(7340):597-601.
41. Wang JC, Cruchaga C, Saccone NL, et al. Risk for nicotine dependence and lung cancer is conferred by mRNA expression levels and amino acid change in CHRNA5. *Human molecular genetics*. 2009;18(16):3125-3135.
42. Bierut LJ, Stitzel JA, Wang JC, et al. Variants in nicotinic receptors and risk for nicotine dependence. *The American journal of psychiatry*. 2008;165(9):1163-1171.

43. Liu Q, Han H, Wang M, et al. Association and cis-mQTL analysis of variants in CHRNA3-A5, CHRNA7, CHRNA2, and CHRNA4 in relation to nicotine dependence in a Chinese Han population. *Translational psychiatry*. 2018;8(1):83.
44. Jensen KP, DeVito EE, Herman AI, Valentine GW, Gelernter J, Sofuoglu M. A CHRNA5 Smoking Risk Variant Decreases the Aversive Effects of Nicotine in Humans. *Neuropsychopharmacology*. 2015;40(12):2813-2821.
45. Dani JA, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007;47:699-729.
46. Le Novère N, Corringer PJ, Changeux JP. The diversity of subunit composition in nAChRs: evolutionary origins, physiologic and pharmacologic consequences. *J Neurobiol*. 2002;53(4):447-456.
47. Zoli M, Pistillo F, Gotti C. Diversity of native nicotinic receptor subtypes in mammalian brain. *Neuropharmacology*. 2015;96(Pt B):302-311.
48. Improgo MR, Soll LG, Tapper AR, Gardner PD. Nicotinic acetylcholine receptors mediate lung cancer growth. *Frontiers in physiology*. 2013;4:251.
49. Pauwels RA, Buist AS, Ma P, Jenkins CR, Hurd SS, Committee GS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: National Heart, Lung, and Blood Institute and World Health Organization Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD): executive summary. *Respiratory care*. 2001;46(8):798-825.
50. Schneider J, Bernges U, Philipp M, Weitowitz HJ. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking. *Cancer letters*. 2004;208(1):65-74.
51. Rennard SI, Daughton DM. Smoking cessation. *Clinics in chest medicine*. 2014;35(1):165-176.
52. Rennard SI. The Promise of Observational Studies (ECLIPSE, SPIROMICS, and COPDGene) in Achieving the Goal of Personalized Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2015;36(4):478-490.
53. Brogger J, Steen VM, Eiken HG, Gulsvik A, Bakke P. Genetic association between COPD and polymorphisms in TNF, ADRB2 and EPHX1. *The European respiratory journal*. 2006;27(4):682-688.
54. Bosse Y. Updates on the COPD gene list. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*. 2012;7:607-631.
55. Nedeljkovic I, Terzikhan N, Vonk JM, et al. A Genome-Wide Linkage Study for Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a Dutch Genetic Isolate Identifies Novel Rare Candidate Variants. *Frontiers in genetics*. 2018;9:133.
56. Siedlinski M, Cho MH, Bakke P, et al. Genome-wide association study of smoking behaviours in patients with COPD. *Thorax*. 2011;66(10):894-902.
57. Janes AC, Smoller JW, David SP, et al. Association between CHRNA5 genetic variation at rs16969968 and brain reactivity to smoking images in nicotine dependent women. *Drug Alcohol Depend*. 2012;120(1-3):7-13.
58. Zhou H, Yang J, Li D, et al. Association of IREB2 and CHRNA3/5 polymorphisms with COPD and COPD-related phenotypes in a Chinese Han population. *Journal of human genetics*. 2012;57(11):738-746.
59. Kaur-Knudsen D, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Nicotinic acetylcholine receptor polymorphism, smoking behavior, and tobacco-related cancer and lung and cardiovascular diseases: a cohort study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29(21):2875-2882.
60. Pizzini A, Filipiak W, Wille J, et al. Analysis of volatile organic compounds in the breath of patients with stable or acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of breath research*. 2018;12(3):036002.
61. Morel C, Fattore L, Pons S, et al. Nicotine consumption is regulated by a human polymorphism in dopamine neurons. *Molecular psychiatry*. 2014;19(8):930-936.
62. Chen LS, Baker TB, Piper ME, et al. Interplay of genetic risk factors (CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4) and cessation treatments in smoking cessation success. *The American journal of psychiatry*. 2012;169(7):735-742.