

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ *IL1β*
В ВОЗНИКНОВЕНИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА И ФОРМИРОВАНИИ
МУЛЬТИФОКАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ИБС****Барбараш О.Л., Байракова Ю.В., Понасенко А.В., Хуторная М.В.,
Кузьмина А.А., Казачек Я.В., Барбараш Л.С.***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Россия*

АННОТАЦИЯ

Цель исследования: оценить вклад полиморфизмов гена *IL1β* rs1143634, rs16944 в развитие инфаркта миокарда (ИМ) и формирование мультифокального атеросклероза (МФА) у пациентов с ИБС.

Материалы и методы: В исследование включено 303 пациента со стабильной ИБС. Концентрацию *IL1β* определяли в сыворотке крови, с применением коммерческих наборов (Bender MedSystems, Австрия). Генотипирование осуществляли в 96-луночном формате методом TaqMan.

Результаты: У женщин, носителей мажорного аллеля G rs1143634 *IL1β* в гомозиготном состоянии, риск формирования многососудистых поражений при атеросклерозе снижается в 4 раза ($p=0,046$), и дополнительно в 2 раза снижается риск возникновения ИМ ($p=0,0198$). Вариативный сайт *IL1β* rs1143634 значимо ($p=0,0025$) ассоциирован со снижением риска возникновения ИМ по доминантной модели наследования (ОШ=0,48, 95%ДИ = 0,29-0,77), а rs16944 — с пятикратным увеличением риска ($p=0,0022$) по кодоминантной модели (ОШ = 5.12, 95%ДИ = 1.82-14.42). Мужчины, носители гомозиготного минорного аллеля T *IL1β* rs16944, имеют риск возникновения ИМ, шестикратно превышающий таковой у женщин ($p=0,0093$). Гаплотип AC (rs1143634-rs16944) ассоциирован со сниженным риском развития ИМ и формирования ПИКС в два раза (ОШ= 0,49, 95%ДИ = 0,29-0,81; $p<0,0059$), с наибольшей выраженностью эффекта в возрасте до 65 лет ($p = 0,0031$). Одновременно у более молодых пациентов (до 65 лет) носительство гаплотипа GT rs1143634-rs16944 ассоциировано с развитием ИМ ($p=0,0074$).

Барбараш Ольга Леонидовна, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», д.м.н., профессор. Россия, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар, 6. E-mail: olb61@mail.ru. Тел. +7(905) 969-64-35; +7 (3842) 64 33 08.

Байракова Юлия Вячеславовна, старший научный сотрудник лаборатории реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза отдела мультифокального атеросклероза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», к.м.н. Россия, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар, 6. E-mail: bayrakovayuv@gmail.com. Тел. +7 (967) 269-34-50.

Понасенко Анастасия Валериевна, заведующая лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», к.м.н. Россия, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар. E-mail: avapanass@mail.ru; ponasenkoav@list.ru. Тел. +7 (3842) 64-41-56; +7 (951) 591-05-50.

Хуторная Мария Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний». Россия, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар. E-mail: masha_hut@mail.ru. Тел. +7(3842) 64-41-27.

Кузьмина Анастасия Александровна, младший научный сотрудник лаборатории исследований гомеостаза отдела диагностики сердечно-сосудистых заболеваний Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний». Россия, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар. E-mail: stusha76@mail.ru. Тел. +7 (904) 377-01-70.

Казачек Яна Владимировна, ученый секретарь, ведущий научный сотрудник лаборатории реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза отдела мультифокального атеросклероза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», к.м.н. Россия, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар. E-mail: kazachek@kemcardio.ru. Тел. +7 (903) 916-13-93.

Барбараш Леонид Семенович, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», академик РАН. Россия, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар. E-mail: reception@kemcardio.ru. Тел. +7 (3842) 64 33 08.

Заключение: В качестве независимых предикторов развития ИМ и формирования МФА, необходимо учитывать генетические маркеры.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, мультифокальный атеросклероз, интерлейкин — IL1 β полиморфные сайты гена IL1 β rs1143634, rs16944.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достижения современной медицины, последнее десятилетие характеризуется неуклонным ростом сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в популяции, а показатели смертности населения России от ССЗ значительно превышают таковые экономически развитых стран Европы, США и Японии [1]. Для фенотипа атеросклероза характерен сложный механизм формирования, заключающийся во взаимодействии генетических факторов с другими факторами риска (ФР), в том числе иммунологическими [2]. Доказано, что повышение уровня IL-1 β ассоциируется с повторными коронарными событиями у больных ИБС. Известно, что у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) отмечалось достоверное повышение уровней IL-1 β , — 4 и —10, по сравнению со здоровыми лицами [3].

Функционально значимые полиморфные варианты генов воспалительного ответа могут иметь существенное влияние на предрасположенность к заболеваниям сердечно-сосудистой системы, в том числе — на особенности клинического течения атеросклеротического процесса, острых коронарных и мозговых событий [4]. Однако в настоящее время сделать однозначные выводы о значении вклада в развитие и прогрессирование атеросклероза тех или иных генов-кандидатов невозможно, что позволяет считать дальнейшее их исследование особенно актуальным.

Цель исследования: оценить вклад полиморфизмов гена IL1 β rs1143634, rs16944 в развитие инфаркта миокарда и формирование мультифокального атеросклероза (МФА) у пациентов с ИБС.

Материалы и методы. В исследование включено 303 пациента со стабильной ИБС, средний возраст 58 (54; 63) лет, из них в возрасте 65 лет и старше — 257 человек (85%). В исследуемой когорте пациентов преобладали мужчины: 213 человек (70%). Индекс массы тела (ИМТ) исследуемых пациентов составил 28,40 (25,15; 31,77) кг/м², у 58 пациентов (19,14%) выявлен сахарный диабет (СД) 2-го типа, 267 человек (88%) имели артериальную гипертензию (АГ), длительность которой составила 10 (3; 16) лет. Гиперхолестеринемия была выявлена у 157 пациентов (52%). У 52 человек (17,16%) диагностирован МФА — атеросклеротическое поражение в нескольких сосудистых бассейнах. 188 пациентов (62,04%) в прошлом

перенесли инфаркт миокарда (ИМ). Исследуемая когорта пациентов имела 3-й (2;3) функциональный класс (ФК) стенокардии и 2-й (2;3) ФК хронической сердечной недостаточности. Различные формы фибрилляции предсердий (ФП) регистрировались у 25 человек (8,25%), перенесенные острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) либо транзиторная ишемическая атака (ТИА) в анамнезе — у 33 пациентов (11%). Курили 99 (32;67%) больных. Сывороточные концентрации IL1 β определялись на уровне 4,06 (3,32; 4,48) пг/мл.

Включение больного в исследование осуществлялось после получения информированного согласия, в том числе на проведение генетического тестирования. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ.

Критериями включения являлись: наличие стабильной ИБС, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) не более IIА стадии по Василенко-Стражеско, функциональный класс ХСН — от I до III. Критериями исключения служили: тяжелые сопутствующие заболевания, аутоиммунные болезни, клапанные пороки сердца, диагностированные опухоли, психические заболевания, отказ от генетического тестирования.

С целью выявления МФА всем больным проводили цветное дуплексное сканирование экстракраниальных артерий (ЭКА), артерий нижних конечностей (АНК) на аппарате ультразвуковой диагностики (Vivid 7 Dimension фирмы GeneralElectric США) при помощи линейных датчиков с частотой 5-7 МГц (для ЭКА), конвексного датчика с частотой 2,5-3 МГц и линейного — 5 МГц (для АНК). Оценка толщины комплекса интима-медиа (КИМ) проводилась в дистальной, средней и проксимальной точках общей сонной артерии с вычислением среднего значения. При этом нормальным считалось значение толщины КИМ до 1 мм.

Выделение геномной ДНК производилось методом фенол-хлороформной экстракции с протеиназой К из цельной венозной крови. Генотипирование осуществляли в 96-луночном формате методом TaqMan в формате учета прохождения полимеразно-цепной реакции в реальном времени (Pт-ПЦР) по протоколу производителя на анализаторе (Applied Biosystems, США). Для контроля качества 10% случайно выбран-

ных образцов были подвергнуты повторному генотипированию.

В исследование включены полиморфные сайты гена интерлейкина-1 β (IL1 β : rs1143634, rs16944) с заменой одного нуклеотида, зарегистрированные в международной базе (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), с частотой редкого аллеля более 5% для европеоидных популяций, имеющие последствия на молекулярном уровне.

Концентрацию IL1 β определяли в сыворотке крови с применением коммерческих наборов (Bender MedSystems, Австрия).

Статистическая обработка осуществлялась с помощью Statistica 6,0. (StatSoft Inc., США). Выявили, что не во всех случаях данные имели признаки Гаусова распределения (критерий Шапиро-Уилка). Использовали методы непараметрической статистики: U-критерий Манна-Уитни и метода χ^2 (таблица 2x2) с поправкой Йетса на непрерывность. Центральную тенденцию представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (25Q; 75Q)).

Анализ результатов генотипирования проводился посредством SNPStats [<http://bioinfo.iconcologia.net/snpstats>]. Равновесие Харди-Вайнберга определяли при помощи критерия χ^2 Пирсона с одной степенью свободы. Для оценки риска вычислялись отношение

шансов (ОШ) и 95%-ные доверительные интервалы (95% ДИ). Для оценки влияния генотипа отдельного полиморфизма исследуемого гена на величину сывороточной концентрации кодируемого белкового продукта использовали однофакторный дисперсионный анализ (Statistica 6,0., StatSoft Inc., США) с определением F- критерия значимости для четырех степеней свободы. Различия признавались статистически значимыми при вероятности отклонить верную нулевую гипотезу менее 0,05 ($p < 0,05$).

Результаты. Первоначально пациенты были разделены на группы в зависимости от наличия мультифокальности атеросклероза. В группу с проявлениями МФА (атеросклеротическое поражение нескольких артериальных бассейнов) вошли 52 пациента (17,16%). Пациенты, не имеющие МФА, составили другую группу - 251 пациент (82,83%). В обеих группах преобладали мужчины ($p=0,000001$). В группе пациентов, имеющих МФА, достоверно чаще встречались больные, перенесшие ОНМК и ТИА ($p=0,01$). По другим клинико-anamnestическим параметрам статистически значимых отклонений выявлено не было. Сывороточные концентрации IL1 β в исследуемых группах значимых различий не имели (табл. 1).

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов в зависимости от наличия МФА

Характеристики	МФА (n=52)	Без МФА (n=251)	p
Мужчины, n (%)	39 (75,00)	174 (69,00)	0,51
Средний возраст, лет	59 (55; 64)	58 (53; 62)	0,07
Старше 65 лет, n (%)	42 (81,00)	215 (86,00)	0,49
ИМТ, кг/м ²	28,01 (25,77; 31,35)	28,69 (24,62; 31,99)	0,75
АГ в анамнезе, n (%)	47 (90,38)	220 (87,64)	0,57
Длительность АГ, лет	10 (5; 20)	10 (3; 15)	0,09
Гиперхолестеринемия, n (%)	26 (50,00)	131 (52,20)	0,77
СД 2-го типа в анамнезе, n(%)	10 (19,23)	48 (19,12)	0,98
ФП, n (%)	7 (13,46)	18 (7,17)	0,13
ПИКС, n (%)	31 (60,00)	157 (63,00)	0,69
ФК стенокардии	3 (2; 3)	3 (2; 3)	0,46
ФК ХСН	2 (2; 3)	2 (2; 3)	0,23
ОНМК/ТИА в анамнезе, n (%)	10 (19,23)	21 (8,36)	0,01
Курение, n (%)	20 (38,46)	79 (31,47)	0,32
Уровень IL1 β , пг/мл	4,08 (3,36; 4,54)	4,06 (3,32; 4,54)	0,52

Все анализируемые полиморфизмы в исследуемой популяции находились в равновесном состоянии в соответствии с законом Харди-Вайнберга.

Анализ ассоциаций не зарегистрировал значимых связей между генотипами и гаплотипами исследуемых полиморфизмов с риском формирования МФА (таблица 2).

Таблица 2

Распределение частот генотипов IL1 β у пациентов в зависимости от наличия МФА по пяти моделям наследования

Модель	Генотип	Без МФА	МФА	ОШ (95% ДИ)	p
IL1 β rs1143634					
Codominant	G/G	137 (55%)	28 (54.9%)	1.00	0.87
	G/A	97 (39%)	21 (41.2%)	1.03 (0.55-1.93)	
	A/A	15 (6%)	2 (3.9%)	0.69 (0.15-3.21)	
Dominant	G/G	137 (55%)	28 (54.9%)	1.00	0.97
	G/A-A/A	112 (45%)	23 (45.1%)	0.99 (0.54-1.82)	
Recessive	G/G-G/A	234 (94%)	49 (96.1%)	1.00	0.6
	A/A	15 (6%)	2 (3.9%)	0.68 (0.15-3.10)	
Overdominant	G/G-A/A	152 (61%)	30 (58.8%)	1.00	0.85
	G/A	97 (39%)	21 (41.2%)	1.06 (0.57-1.97)	
Log-additive	---	---	---	0.94 (0.57-1.57)	0.82
IL1 β rs16944					
Codominant	C/C	101 (40.6%)	22 (43.1%)	1.00	0.41
	C/T	118 (47.4%)	26 (51%)	0.96 (0.51-1.81)	
	T/T	30 (12.1%)	3 (5.9%)	0.45 (0.13-1.63)	
Dominant	C/C	101 (40.6%)	22 (43.1%)	1.00	0.63
	C/T-T/T	148 (59.4%)	29 (56.9%)	0.86 (0.46-1.59)	
Recessive	C/C-C/T	219 (88%)	48 (94.1%)	1.00	0.18
	T/T	30 (12.1%)	3 (5.9%)	0.46 (0.14-1.59)	
Overdominant	C/C-T/T	131 (52.6%)	25 (49%)	1.00	0.76
	C/T	118 (47.4%)	26 (51%)	1.10 (0.60-2.02)	
Log-additive	---	---	---	0.79 (0.49-1.28)	0.33

Однако, выявлено, что у женщин, носителей мажорного аллеля G rs1143634 IL1 β в гомозиготном состоянии (таблица 3), риск формирования многососудистого поражения и соответственно возникновения инсульта снижается в 4 раза (p=0,046).

Таблица 3

Ассоциации генотипов IL1 β rs1143634 с полом пациентов в зависимости от формирования МФА (n=300, с поправкой на возраст)

Генотип	Пол					
	Мужчины			Женщины		
	Без МФА	МФА	ОШ (95% ДИ)	Без МФА	МФА	ОШ (95% ДИ)
G/G	89	24	1.00	48	4	0.25 (0.08-0.83)
G/A	75	14	0.69 (0.33-1.43)	22	7	0.96 (0.34-2.72)
A/A	9	1	0.40 (0.05-3.32)	6	1	0.58 (0.07-5.13)
p= 0,046						

Далее исследуемые пациенты были разделены по признаку перенесенного в прошлом ИМ. В таблице 4 представлена их клиническая характеристика. В обеих группах преобладали лица мужского пола. Вместе с тем у пациентов с ПИКС мужчин было больше, чем в группе без ПИКС. Пациенты, имеющие историю

ИМ были старше (p=0,026), чаще имели различные формы ФП (p=0,005). Других достоверных различий в клинико-anamnestических показателях, а также в сывороточной концентрации IL1 β в анализируемых группах зарегистрировано не было (табл. 4).

Таблица 4

Клиническая характеристика пациентов в зависимости от наличия в анамнезе ИМ (ПИКС)

Характеристики	ПИКС (n=188)	Без ПИКС (n=115)	p
Мужчин, n (%)	144 (77,00)	69 (60,00)	0,002
Средний возраст, лет	59 (55; 64)	57 (53; 62)	0,026
ИМТ, (кг/м ²)	27,97 (24,89; 31,48)	29,05 (25,21; 32,83)	0,21
АГ в анамнезе, n (%)	162 (86,17)	105 (91,30)	0,18
Длительность АГ, (лет)	10 (3; 15)	10 (5; 20)	0,07
Гиперхолестеринемия, n (%)	100 (53,19)	57 (49,56)	0,53
СД 2-го типа в анамнезе, n (%)	34 (18,08)	24 (20,87)	0,54
ФП, n (%)	16 (13,91)	9 (4,79)	0,005
ФК стенокардии	2 (2;3)	3 (2; 3)	0,44
ФК ХСН	2 (2; 2)	2 (2; 3)	0,36
ОНМК/ТИА в анамнезе, n (%)	21 (11,17)	12 (10,43)	0,84
Курение, n (%)	68 (36,17)	31 (26,95)	0,09
МФА, n (%)	31 (16,00)	21 (18,00)	0,81
Уровень IL1β, (пг/мл)	4,16 (3,48; 4,54)	4,04 (3,3; 4,32)	0,07

Показано, что независимо от пола, возраста и наличия МФА, полиморфизмы IL1β имеют значимые ассоциации с риском возникновения ИМ (таблица 5). Так варибельный сайт IL1β rs1143634 значимо (p=0,0025) ассоциирован со снижением риска воз-

никновения ИМ по доминантной модели наследования (ОШ=0,48, 95%ДИ = 0,29-0,77), а rs16944 – с пятикратным увеличением риска развития ИМ (p= 0,0022) по кодоминантной модели (ОШ = 5,12, 95%ДИ = 1,82-14,42).

Таблица 5

Распределение частот генотипов IL1β у пациентов в зависимости от возникновения ИМ по пяти моделям наследования (с поправками на пол, возраст и наличие /отсутствие МФА)

Модель	Генотип	Без ПИКС	ПИКС	ОШ (95%ДИ)	P
rs1143634					
Codominant	G/G	51 (44.7%)	114 (61.3%)	1.00	0.0096
	G/A	54 (47.4%)	64 (34.4%)	0.49 (0.29-0.81)	
	A/A	9 (7.9%)	8 (4.3%)	0.40 (0.14-1.12)	
Dominant	G/G	51 (44.7%)	114 (61.3%)	1.00	0.0025
	G/A-A/A	63 (55.3%)	72 (38.7%)	0.48 (0.29-0.77)	
Recessive	G/G-G/A	105(92.1%)	178 (95.7%)	1.00	0.23
	A/A	9 (7.9%)	8 (4.3%)	0.54 (0.20-1.48)	
Overdominant	G/G-A/A	60 (52.6%)	122 (65.6%)	1.00	0.012
	G/A	54 (47.4%)	64 (34.4%)	0.54 (0.33-0.88)	
Log-additive	---	---	---	0.55 (0.37-0.82)	0.0033
rs16944					
Codominant	C/C	57 (49.6%)	66 (35.7%)	1.00	0.0022
	C/T	53 (46.1%)	91 (49.2%)	1.44 (0.87-2.38)	
	T/T	5 (4.3%)	28 (15.1%)	5.12 (1.82-14.42)	
Dominant	C/C	57 (49.6%)	66 (35.7%)	1.00	0.024
	C/T-T/T	58 (50.4%)	119 (64.3%)	1.75 (1.08-2.84)	
Recessive	C/C-C/T	110(95.7%)	157 (84.9%)	1.00	0.0014
	T/T	5 (4.3%)	28 (15.1%)	4.24 (1.56-11.53)	
Overdominant	C/C-T/T	62 (53.9%)	94 (50.8%)	1.00	0.72
	C/T	53 (46.1%)	91 (49.2%)	1.09 (0.68-1.76)	
Log-additive	---	---	---	1.83 (1.25-2.68)	0.0015

Выявлены ассоциации носительства отдельных аллельных вариантов IL1 β с перенесенным в анамнезе ИМ в зависимости от гендерной принадлежности (табл. 6). Так носительство мажорного аллеля G rs1143634 дополнительно в 2 раза снижает риск воз-

никновения ИМ у женщин ($p=0,0198$), а мужчины, носители гомозиготного минорного аллеля T rs16944, имеют риск возникновения ИМ шестикратно превышающий таковой у женщин ($p=0,0093$).

Таблица 6

Ассоциации генотипов IL1 β с полом пациентов в зависимости от перенесенного ИМ (с поправкой на возраст)

Генотип	Мужчины			Женщины		
	Без ПИКС	ПИКС	ОШ (95% ДИ)	Без ПИКС	ПИКС	ОШ (95% ДИ)
rs1143634						
G/G	28	85	1.00	23	29	0.46 (0.22-0.97)
G/A	36	53	0.48 (0.26-0.88)	18	1	0.23 (0.09-0.57)
A/A	5	5	0.33 (0.09-1.22)	4	3	0.25 (0.05-1.20)
$p=0,0198$						
rs16944						
C/C	32	50	1.00	25	16	0.46 (0.21-1.02)
C/T	35	2	1.34 (0.74-2.45)	18	9	0.78 (0.34-1.80)
T/T	2	20	6.33 (1.38-29.05)	3	8	1.98 (0.47-8.26)
$p=0,0093$						

Анализ ассоциаций гаплотипов выявил один протективный гаплотип и один рисковый (табл. 7, 8). Гаплотип AC (rs1143634-rs16944), встречающийся у

21% больных ИБС, снижает риск развития ИМ в два раза (ОШ= 0,49, 95%ДИ = 0,29-0,81; $p=0,0059$).

Таблица 7

Ассоциации гаплотипов IL1 β с ИМ и формированием ПИКС (поправка на пол и возраст)

rs1143634	rs16944	Частота гаплотипа	ОШ (95% ДИ)	p
G	C	0,441	1.00	---
G	T	0,305	1,40 (0,89-2,21)	0,15
A	C	0,209	0,49 (0,29 – 0,81)	0,0059
A	T	0,045	2,18 (0,62-7,67)	0,23

При этом, независимо от пола пациента, наиболее выраженный протективный эффект снижающего риск развития ИМ гаплотипа AC (rs1143634-rs16944) отмечается ($p = 0,0031$) у лиц моложе 65 лет (таблица 8). Одновременно у более молодых пациентов (до

65 лет), носителей гаплотипа rs1143634-rs16944 GT, риск ИМ был выше ($p=0,0074$) почти в два раза (таблица 8), по сравнению с более старшей возрастной категорией пациентов.

Таблица 8

Ассоциации гаплотипов IL1 β с ИМ и формированием ПИКС у пациентов разных возрастов (поправка на пол)

IL1 β		Частота Гаплотипа	Возраст	
rs1143634	rs16944		До 65 (ОШ (95%ДИ))	Старше 65 (ОШ (95% ДИ))
G	C	0,439	1,00	1,00
G	T	0,307	1,72 (1,03-2,87)	0,70 (0,26-1,89)
A	C	0,211	0,50 (0,29-0,86)	0,71 (0,20-2,47)
A	T	0,043	2,81 (0,64-12,40)	0,00

Значимых ассоциаций между аллельными полиморфизмами генов и сывороточными концентрациями IL1 β в данном исследовании обнаружено не было ($F=1,044$, $p=0,39$ для rs1143634 и $F=0,01$, $p=0,99$ для rs16944 IL1 β).

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы, развитие мультифокального атеросклеротического поражения связано с многочисленными сердечно-сосудистыми осложнениями, в то же время сам факт выявления МФА имеет самостоятельную неблагоприятную прогностическую значимость [5]. Атеросклероз, в настоящее время рассматриваемый с позиции хронической болезни артериальной стенки, предполагает вовлечение в патологический процесс как врожденных, так и адаптивных иммуновоспалительных механизмов, главную роль в которых играют медиаторы межклеточного взаимодействия - цитокины [6]. Фундаментальные исследования последних лет свидетельствуют об эссенциальной роли иммунного воспаления в атерогенезе. В экспериментальных исследованиях выявлены множественные регуляторные эффекты провоспалительных цитокинов в очаге атеросклеротического поражения, специфически связанные с патогенезом атеросклероза. Кроме этого, при иммуновоспалительных процессах цитокины индуцируют тканевые и плазменные события, ведущие к перестройке метаболизма липидов в печени и кишечнике, атерогенным изменениям циркулирующих липопротеинов. В ряде исследований выявлено повышение в сыворотке крови уровней провоспалительных цитокинов при ИБС, установлена связь с выраженностью поражения коронарного русла, дестабилизацией течения заболевания [3]. Провоспалительный цитокин IL-1 β считается ключевым белком, участвующим в ряде биологических событий, в развитии ряда периферических воспалительных заболеваний, таких как диабет и атеросклероз [3]. Так, в одном из исследований, при оценке цитокинового статуса пациентов с атеросклерозом выявлено статистически значимое увеличение как провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, FNO- α), так и противовоспалительного цитокина (IL-8) в группах больных со стабильным течением заболевания и облитерирующим атеросклерозом, в сравнении со здоровыми добровольцами. Кроме того отмечено, что пациенты, характеризующиеся прогрессирующим течением атеросклероза отличаются от пациентов со стабильным течением заболевания более высокими показателями концентрации цитокинов [7]. Дисбаланс между про- и противовоспалительными факторами имеет большое значение для развития МФА, острого коронарного синдрома (ОКС) и его осложнений [8]. Известно, что воспаление является центральным звеном всех стадий атеросклероза [3], а ОКС - клас-

сическим примером асептической воспалительной реакции, развивающейся вслед за развитием некроза [6]. Доказано, что повышение уровней IL-1 β и IL-6 ассоциируется с повторными коронарными событиями у больных ИБС [9]. Рядом ученых (2008) выявлен высокий уровень FNO- α и IL-6 у пациентов с сочетанием ОКС и инсульта, что свидетельствует о высокой активности воспалительного ответа у больных с МФА [10]. В работах Kannel W.B. [11] также доказано, что перенесенный эпизод атеротромбоза в несколько раз увеличивает риск развития последующих ишемических событий не только в ранее пораженной, но и в других сосудистых областях. В нашем исследовании в подтверждение многочисленным результатам других научных работ регистрировалась тенденция к повышению уровня IL-1 β у пациентов с ПИКС и МФА. Отсутствие достоверных различий в уровне IL-1 β у наших пациентов можно объяснить, по-видимому, приемом статинов, которые, как известно, снижают уровень данного белка. Кроме того, в исследование включались только стабильные пациенты.

Известно, что семейство генов IL-1 расположено в определенном месте хромосомы 2q13. Определенный генотип отвечает за повышенную продукцию этого IL. [12]. Доказано, что аллель 2 IL-1 β +3954 rs1143634 ассоциирован с 4-кратным повышением продукции IL-1 β [13]. Однако, в отличие от проведенных ранее исследований мы не обнаружили значимых ассоциаций между аллельными полиморфизмами и сывороточными концентрациями IL1 β .

Известно, что вариации в генах, которые регулируют выработку IL-1, ассоциированы с развитием ИБС: аллель 2 IL-1RN+2018 VNTR (IL-1RN 2) ассоциирован с однососудистым поражением [14] и атеросклерозом сонных артерий [15]. Присутствие IL-1RN 2 полиморфизма повышает уровень известного IL-1Ra и, возможно, отношения IL-1Ra: IL-1 β и ассоциируется со снижением формирования атеросклероза коронарных сосудов [16]. В различных обзорах показано, что генетические полиморфизмы IL-1 ассоциируются с высоким уровнем медиаторов воспаления, коррелируя также с увеличением риска кардиоваскулярных событий [17].

Одним из подтверждений важной роли воспаления в реализации атеросклероза являются результаты исследований, демонстрирующих параллели между известными септическими и иммунно-воспалительными заболеваниями и атеросклерозом. Результаты различных метаанализов свидетельствуют, что периодонтит является независимо от традиционных, самостоятельным фактором риска ИБС (ОР от 1.24 до 1.35) [18,19]. Существует несколько гипотез, объясняющих эту взаимосвязь, включая вовлечение бактерий, вызывающих периодонтит, в процесс образования атеросклеротических бляшек, прямое участие медиаторов воспаления, образующихся при

периодонтите, а также различные предрасполагающие механизмы, оказывающие влияние на развитие обоих заболеваний [20] и их общую генетическую предрасположенность [21]. Хотя очень мало сведений о наличии определенного гена, отвечающего за эту взаимосвязь, существуют несколько многообещающих кандидатов. Так, полиморфизмы гена IL-1 были ассоциированы с ИБС и периодонтитом [20]. Известно, что генетические полиморфизмы IL-1 +4845 rs 17561 и IL-1 +3954 rs 1143634 ассоциируются с периодонтитом, а полиморфизмы IL-1 -511 rs 16944 и IL-1RN+2018 VNTR ассоциируется с формированием атеросклеротической бляшки [21]. В другой работе доказано, что полиморфизмы гена IL-1 играют роль в развитии ИБС, особенно в формировании ИМ, у пациентов с хламидийной инфекцией [22]. Доказано, что пациенты с ИБС имеют более тяжелый статус по периодонтиту, по сравнению с пациентами соответствующего возраста без ИБС [21]. В данной научной работе была обнаружена связь между аллелем 2 IL-1 α +4845 rs17561 и ИБС, при этом не выявлено ассоциации между аллелем 2 IL-1 β +3954 rs 1143634 и ИБС. Напротив, в нашем исследовании показано, что варибельный сайт IL1 β rs1143634 значимо ($p=0,0025$) ассоциирован со снижением риска возникновения ИМ по доминантной модели наследования (ОШ=0,48, 95%ДИ = 0,29-0,77). При этом, данная закономерность имеет гендерную зависимость. Так у женщин, носителей мажорного аллеля G rs1143634 IL1 β в гомозиготном состоянии, риск возникновения ИМ снижается в 2 раза ($p=0,0198$), и, дополнительно, риск формирования многососудистых поражений при атеросклерозе снижается в 4 раза ($p=0,046$), тогда как для мужчин такой зависимости не определено.

Нет единого мнения в отношении связи между аллелем 2 IL-1 β -511 rs 16944 и ИБС [21]. Нами доказано, что варибельный сайт IL1 β rs16944 связан с пятикратным увеличением риска возникновения ИМ ($p=0,0022$) по кодоминантной модели (ОШ = 5.12, 95%ДИ = 1.82-14.42).

В результате большого количества исследований доказано, что определенное состояние гена ассоциируется с многократным увеличением секреции белка. Однако, большинство описанных исследований были проведены на пациентах, имеющих острые сердечно-сосудистые осложнения. В нашем исследовании пациенты имели стабильные формы ИБС, и все сердечно-сосудистые события были известны нам анамнестически. Таким образом, дальнейшая работа в поиске новых генов-кандидатов, влияющих на течение мультифокального атеросклероза пациентов различных клинических групп может иметь большой интерес, и способствовать в дальнейшем формированию определенной тактики ведения данной когорты

больных с целью предотвращения сердечно-сосудистых катастроф.

ВЫВОДЫ.

1. У женщин, носителей мажорного аллеля G rs1143634 IL1 β в гомозиготном состоянии, риск формирования многососудистых поражений при атеросклерозе снижается в 4 раза ($p=0,046$), и дополнительно в 2 раза снижается риск возникновения ИМ ($p=0,0198$).

2. Варибельный сайт IL1 β rs1143634 значимо ($p=0,0025$) ассоциирован со снижением риска возникновения ИМ по доминантной модели наследования (ОШ=0,48, 95%ДИ = 0,29-0,77), а rs16944 – с пятикратным увеличением риска ($p=0,0022$) по кодоминантной модели (ОШ = 5.12, 95%ДИ = 1.82-14.42).

3. Мужчины, носители гомозиготного минорного аллеля T IL1 β rs16944, имеют риск возникновения ИМ, шестикратно превышающий таковой у женщин ($p=0,0093$).

4. Гаплотип AC (rs1143634-rs16944) ассоциирован со сниженным риском развития ИМ и формирования ПИКС в два раза (ОШ= 0,49, 95%ДИ = 0,29-0,81; $p<0,0059$), с наибольшей выраженностью эффекта в возрасте до 65 лет ($p=0,0031$). Одновременно у более молодых пациентов (до 65 лет) носительство гаплотипа GT rs1143634-rs16944 ассоциировано с развитием ИМ ($p=0,0074$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Крюков Н. Н., Николаевский Е. Н., Поляков В. П. Ишемическая болезнь сердца (современные аспекты клиники, диагностики, лечения, профилактики, медицинской реабилитации, экспертизы). Самара, 2010. 651 с.
2. Трубникова Е. В., Кохтенко Е. В., Куприянова Я. С. Однонуклеотидный полиморфизм в гене человека — важный объект молекулярно-генетических исследований в медицинской генетике. URL: [http://www.rusnauka.com/ 8_NIT_2008/Tethis/Biologia/27460.doc.htm](http://www.rusnauka.com/8_NIT_2008/Tethis/Biologia/27460.doc.htm).
3. Libby P., Ridker M. P., Hansson K. G. Inflammation in atherosclerosis. From pathophysiology to practice // J. Am. Coll. Cardiol. 2009. Vol. 54, № 23. P. 2129-2138.
4. Tang, Z., Tracy R. P. Candidate genes and confirmed genetic polymorphisms associated with cardiovascular diseases: a tabular assessment // J. Thromb. Thrombolysis. 2001. Vol. 11, № 1. P. 49-81.
5. Shimizu K., Shimomura K., Tokuyama Y. et al. Association between inflammatory biomarkers and progression of intracranial large artery stenosis after ischemic stroke // J. Stroke Cerebrovasc. Dis. 2013. Vol. 22, № 3. P. 211-217.
6. McCullough P.A., Peacock F.W., O'Neil B., de

- Lemos J.A. Capturing the pathophysiology of acute coronary syndromes with circulating biomarkers // *Rev. Cardiovasc. Med.* 2010. Vol. 11, suppl. 2. P. 3-12.
7. Казанцев А. В., Корымасов Е. А. Цитокиновый статус и эндотелиальная дисфункция у больных облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей. *Вестн. НГУ. Сер. Биология. Клиническая медицина.* 2011. Т. 9, вып. 1. С. 112-117.
 8. Szomjak E., Der H., Kerekes G. et al. Immunological parameters, including CXCL8 (IL-8) characterize cerebro- and cardiovascular events in patients with peripheral artery diseases // *Scand. J. Immunol.* 2010. Vol. 71, № 4. P. 283-291.
 9. Королева О. С., Затеишиков Д. А. Биомаркеры в кардиологии: регистрация внутрисосудистого воспаления // *Фарматека.* 2007. № 8/9. С. 30-36.
 10. Митьковская Н. П., Герасименко Д. С., Ходосовская Е. В., Картун Л. В. Активность воспалительного ответа у пациентов с сочетанием острого коронарного синдрома и острого ишемического повреждения мозга // *Мед. журн.* 2008. № 3. С. 100-102.
 11. Kannel W. B. Risk factors for atherosclerotic cardiovascular outcomes in different arterial territories // *J. Cardiovasc. Risk.* 1994. Vol. 1. P. 333-339.
 12. Nicklin M. J., Weith A., Duff G. W. A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-1 receptor antagonist genes // *Genomics.* 1994. Vol. 19, № 2. P. 382-384.
 13. Pociot F., Mølviig J., Wogensen L. et al. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro // *Eur. J. Clin. Invest.* 1992. Vol. 22, № 6. P. 396-402.
 14. Francis S. E., Camp N. J., Dewberry R. M. et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease // *Circulation.* 1999. Vol. 99, № 7. P. 861-866.
 15. Worrall B. B., Azhar S., Nyquist P. A. et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in carotid atherosclerosis // *Stroke.* 2003. Vol. 34, № 3. P. 790-793.
 16. Olofsson P. S., Sheikine Y., Jatta K. et al. A functional interleukin-1 receptor antagonist polymorphism influences atherosclerosis development. The interleukin-1 beta: interleukin-1 receptor antagonist balance in atherosclerosis // *Circ. J.* 2009. Vol. 73, № 8. P. 1531-1536.
 17. Vicienová B., Vopálenký V., Burýsek L., Pospíšek M. Emerging role of interleukin-1 in cardiovascular diseases // *Physiol. Res.* 2009. Vol. 58, № 4. P. 481-498.
 18. Humphrey L. L., Fu R., Buckley D. I. et al. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis // *J. Gen. Intern. Med.* 2008. Vol. 23, № 12. P. 2079-2086.
 19. Bahekar A. A., Singh S., Saha S. et al. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis // *Am. Heart J.* 2007. Vol. 154, № 5. P. 830-837.
 20. Kornman K. S., Pankow J., Offenbacher S. et al. Interleukin-1 genotypes and the association between periodontitis and cardiovascular disease // *J. Periodontol.* 1999. Vol. 34, № 7. P. 353-357.
 21. Bashour L., Khattab R., Harfoush E. The Role of interleukin-1 genotype in the association between coronary heart disease and periodontitis in a Syrian population // *ISRN Dent.* 2013. 195678. doi: 10.1155/2013/195678.
 22. Momiyama Y., Hirano R., Taniguchi H. et al. Effects of interleukin-1 gene polymorphisms on the development of coronary artery disease associated with Chlamydia pneumoniae infection // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001. Vol. 38, № 3. P. 712-717.

THE ROLE OF IL1B CANDIDATE GENE POLYMORPHISMS IN THE OCCURRENCE OF MYOCARDIAL INFARCTION AND MULTIVESSEL DISEASE IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Barbarash O.L., Bairakova J.V., Ponasenko A.V., Khutornaya M.V., Kuzmina A.A., Kazachek Y.V., Barbarash L.S.

Objective: To evaluate the contribution of IL1 β gene polymorphisms rs1143634 and rs16944 in the development of myocardial infarction (MI) and multivessel coronary artery disease in patients with CAD.

Material and Methods: 303 patients with stable coronary artery disease were included in the study. Serum IL1 β levels were measured with commercial kits (Bender MedSystems, Austria). TaqMan genotyping assays were performed in 96-well plate.

Results: Women, who were homozygous carriers of the IL-1 β rs1143634 G major allele, had a 4-fold decreased risk of developing multivessel coronary artery disease ($p = 0.046$) as well as a 2-fold decreased risk of myocardial infarction ($p = 0.0198$). The variable site of the IL1 β rs1143634 was significantly ($p = 0.0025$) associated with a reduced risk of MI according to the dominant inheritance pattern (OR = 0.48, 95% CI = 0.29-0.77), and rs16944 - with a five-fold increased risk ($p = 0.0022$) according to the co-dominant model (OR = 5.12, 95% CI = 1.82-14.42). The risk of myocardial infarction in men, who were homozygous carriers of the IL1 β rs16944 T minor allele, was six times higher than that in women ($p = 0.0093$). The AC haplotype (rs1143634-rs16944) was associated with a 2-fold reduced risk of myocardial infarction and PICS (OR = 0.49, 95% CI = 0.29-0.81, $p < 0.0059$), with the most pronounced effects in the age of 65 years ($p = 0.0031$). However, the GT haplotype rs1143634-rs16944 in younger patients (<65 years) was associated with the development of myocardial infarction ($p = 0.0074$).

Conclusion: Genetic markers should be taken into consideration as an independent predictors of myocardial infarction and multivessel coronary artery disease.

Keywords: myocardial infarction, multivessel coronary artery disease, interleukin - IL1 β gene polymorphic sites IL1 β rs1143634, rs16944.

*Статья поступила 30 июня 2016 г.
Принята в печать 11 июля 2016 г.*