

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ БЕЛКОВ – РЕГУЛЯТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ, ОСЛОЖНЕННОМ РАЗВИТИЕМ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА© 2011 В.И. Коненков¹, А.В. Шевченко¹, В.Ф. Прокофьев¹, М.И. Воевода²

¹ Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, лаборатория клинической иммуногенетики, 630117, г. Новосибирск, ул. Арбузова, 6

² Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт терапии СО РАМН, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

С целью исследования характера ассоциированности генотипов цитокинов и ряда других регуляторных белков с развитием острого инфаркта миокарда (ОИМ) у мужчин разного возраста исследован полиморфизм промоторных участков генов: *TNFC-863A*; *TNFG-308A*; *TNFG-238A*; *IL-1β C-511T*; *IL-1β T-31C*; *IL-4C-590T*; *IL-6G-174C*; *IL-10A-1082G*; *IL-10C-590A*; *MMP-2C-1306T*; *MMP-9C-1562T*; *HSP-70-2 A-1267G* и *HSP-70-HOM C- 2437T*. Генотипирование аллельных вариантов генов осуществляли методом рестриктового анализа продуктов амплификации. Полиморфные участки амплифицировали с использованием пары специфичных праймеров, продукты амплификации подвергались гидролизу соответствующими эндонуклеазами рестрикции, гель – электрофорезу с последующим документированием и анализом. Обследовано 223 мужчины, перенесшие ранее ОИМ, и 95 здоровых мужчин европеоидного происхождения, соответствующих возрасту и социально бытовым условиям жизни. Показано, что практически в каждом полиморфном участке исследованных генов выявляются аллели и генотипы, в различной степени ассоциированные с развитием ОИМ. Часто эти генетические факторы риска синергически взаимодействуют с такими классическими факторами риска развития атеросклероза, как курение, возраст, избыточный индекс массы тела, повышенное артериальное давление. Установлено, что комплексный анализ выявления в геноме пациента целого ряда генотипов полиморфных участках генов цитокинов *IL-1β – IL-6 – IL-4 – IL-10 – TNFA* позволяет получить значительно более высокие показатели величины отношения шансов. Исследование полиморфизма генов белков, принимающих участие в регуляции активности воспаления, имеет самостоятельное значение в разработке комплексных генетических факторов риска развития атеросклероза и его сосудистых осложнений.

Ключевые слова: атеросклероз, воспаление, острый инфаркт миокарда, гены цитокинов, гены металлопротеиназ, гены белков теплового шока.

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление – неотъемлемая компонента большинства заболеваний человека. Не является исключением и атеросклероз, сопровождающийся сосудистыми нарушениями на поздних стадиях своего развития. Воспалительные процессы, протекающие в атеросклеротической бляшке, являются частой причиной нарушения

ее целостности, дестабилизации и последующих нарушений внутрисосудистого кровотока. В регуляции воспаления принимают участие большое число как внутри-, так и внеклеточных белков. Как правило, гены, кодирующие их структуру, полиморфны в различных участках, что отражается и на функциональной активности кодируемых белков, и на уровне их продукции клетками воспалительных процессов.

Коненков Владимир Иосифович – д-р мед. наук, проф., академик РАМН, директор НИИКЭЛ СО РАМН, e-mail: konenkov@soramn.ru

Шевченко Алла Владимировна – канд. биол. наук, с. н. с. лаборатории клинической иммуногенетики, e-mail: shalla64@mail.ru

Прокофьев Виктор Федорович – канд. мед. наук, в. н. с. лаборатории клинической иммуногенетики, e-mail: vprok@ngs.ru

Воевода Михаил Иванович – д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН, директор НИИ терапии СО РАМН, e-mail: vovoda@iimed.ru

В последние годы интерес исследователей постепенно смещается от анализа роли генов-регуляторов липидного обмена к генам-регуляторам воспаления. Основное место в этих исследованиях занимают гены цитокинов/интерлейкинов (*IL*) с про- и противовоспалительной активностью, гены матричных металлопротеиназ (*MMP*) и генов-регуляторов процессов внутриклеточного транспорта (*HSP*).

Среди цитокинов основное значение придается интерлейкинам с провоспалительной активностью – *IL-1 β* , *IL-6*, *TNF- α* . Все они обладают плеiotропными эффектами. Кроме способности индуцировать апоптоз, *TNF- α* вызывает генерализацию в клеточной мембране активных форм кислорода, супероксид-радикалов и оксида азота, а также влияет на эндотелий, усиливая экспрессию на нем молекул адгезии, активирует макрофаги, нейтрофилы, усиливает секрецию простагландинов, оказывает хемотаксическое действие на различные клетки и обуславливает синтез белков острой фазы воспаления. Нарушение метаболизма *TNF- α* , несомненно, играет определенную роль в развитии сердечно-сосудистых нарушений [1, 2]. Показано, что постишемическая реперфузия миокарда сопровождается увеличением уровня цитокинов *TNF- α* , *IL-1*, *IL-6*. По некоторым данным, уровень *TNF- α* в сыворотке повышался как у больных с нестабильной, так и у пациентов со стабильной стенокардией III–IV функционального класса [3, 4]. Ген фактора некроза опухоли (*TNFA*) расположен на шестой хромосоме в позиции бр21.1-21.3 внутри кластера генов III класса МНС (молекулы главного комплекса тканевой совместимости) между генами *HLA-B* и *HLA-DR*. Известно более 30 полиморфных вариантов гена (SNP-полиморфизмы, микросателлиты), но только часть из них влияет на уровень экспрессии *TNF- α* *in vitro*. Наибольший интерес исследователей вызывает SNP-полиморфизм промоторной области гена в позициях –238, –308 с заменой гуанина на аденин и –863 с заменой цитозина на аденин [5, 6].

IL-6 оказывает разнообразное и существенное влияние на многие органы и системы организма: кровь, печень, иммунную и эндокринную системы, а также на обмен веществ. Показано, что *IL-6* воздействует на синтез белков острой фазы воспаления гепатоцитами и способствует увеличению концентрации С-реактивного протеина (СРП) [7]. Следует отметить, что пик концентрации СРП коррелирует с максимальным увеличением концентрации *IL-6* [8]. Повышенные уровни *IL-6* связывают с развитием и тяжестью коронарной болезни, с активизацией процессов в атеросклеротической бляшке

и последующим острым коронарным случаем [9–11]. Высказываются мнения, что, несмотря на то что подобные процессы характеризуются активностью белков острой фазы, повышение концентрации *IL-6* может быть дополнительным маркером развития патологического процесса в сосудистом русле [12].

В ряде исследований выявлены значительные нарушения баланса между концентрациями про- (*TNF- α* , *IL-6*, *IL-8*) и противовоспалительных (*IL-4*) цитокинов у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) и дислипидемиями (повышенным уровнем холестерина (ХС) и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП)) [3]. Выявлена линейная зависимость между сывороточным уровнем *IL-6* и уровнем ЛПОНП [13].

С уровнем продукции этого провоспалительного белка связывают аллельный полиморфизм промоторного региона гена *IL-6*, в частности, в позиции –174G→C. По результатам ряда исследований аллельный вариант гена *IL-6*–174C ассоциирован с более низким плазменным уровнем *IL-6* [14, 15], а по другим, напротив, генотип –174CC ассоциирован с более высоким плазменным уровнем белка [12, 16].

IL-1 инициирует и регулирует воспалительные и иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (*IL-2*, 3, 6, *TNF- α*), молекул адгезии (Е-селектинов), прокоагулянтов, простагландинов. *IL-1 β* повышает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность, оказывает пирогенный эффект. Эндотелиальные клетки сосудов человека под влиянием *IL-1* секретируют полипептиды, подобные тромбоцитарному фактору роста, которые могут стимулировать клеточную миграцию и пролиферацию и вызывать освобождение сосудистых медиаторов воспаления, что может привести к диссеминированной внутрисосудистой коагуляции [17, 18]. Показан повышенный уровень mRNA *IL-1* в атеросклеротических бляшках и высказано предположение, что *IL-1* может усиливать местную иммунореактивность [19]. Исследования последних лет показали, что за уровень экспрессии и продукции цитокина ответственны некоторые аллельные ассоциации генов семейства *IL-1*. Так, регуляторный регион *IL-1 β* содержит несколько полиморфных сайтов, причем один из них (в позиции –31) расположен непосредственно в последовательности *TATA-box*, характерной для многих индуцибельных белков. Для ряда европеоидных популяций показано, что SNP *IL-1 β* (–31) находится в 100%-м неравновесном сцеплении с SNP *IL-1 β* (–511) [20, 21].

Секреция цитокинов в месте формирования атеросклеротической бляшки стимулирует большинство клеток к образованию MMP, повреждающих коллагеновое покрытие и предрасполагающих бляшку к разрыву. У больных с острым коронарным синдромом (ОКС) выявлено наличие в бляшке участков, богатых макрофагами, способными разрушать экстрацеллюлярный матрикс за счет фагоцитоза и секреции протеолитических ферментов, таких как активаторы плазминогена, металлопротеиназы (коллагеназы, желатиназы, стромелизины), действие которых ослабляет фиброзную покрышку бляшки и способствует ее разрыву. Металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы участвуют в процессах ремоделирования сосудов. На культуре макрофагов, полученных из человеческих моноцитов, показано, что разрушение фиброзной покрышки атеросклеротической бляшки связано с повышенной активностью интерстициальной коллагеназы и желатиназы [22–24].

Важное значение в деградации экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) отводится MMP-9 («желатиназа В», коллагеназа IV типа 92-kDa), которая, облегчая проникновение моноцитов через эндотелий и их накопление, способствует активации тромбоцитов и каскаду коагуляции. MMP-9 идентифицирована непосредственно в атеросклеротических бляшках [25, 26] и активна против денатурированного коллагена (желатина) и IV, V и XI типов коллагена [27].

Установлено, что уровень MMP-9 тем выше, чем больше объем атеросклеротического поражения коронарного русла. При анализе образцов крови, взятых из аорты и большой вены сердца в пределах 12 ч от начала инфаркта миокарда (ИМ) и 48 ч от начала НС, показано достоверное повышение уровня MMP-9 по сравнению с больными стенокардией напряжения и здоровыми людьми. На основании этого ряд авторов рекомендует использовать MMP-9 в качестве маркеров острой фазы, т. е. фазы разрыва бляшки [28]. Регуляция экспрессии MMP-9 происходит прежде всего на транскрипционном уровне, в промоторном регионе гена, и зависит от влияния эндотелиальных факторов роста и цитокинов [29]. Выявлен функциональный полиморфизм *MMP-9 C→T* в области промотора в позиции *-1562*, причем наличие в генотипе минорного аллеля **T* обеспечивает высокую транскрипционную активность гена [30]. Выявлена также ассоциация между этим полиморфизмом и тяжестью атеросклероза у пациентов, обследованных с помощью ангиографии [31].

Корректность укладки вновь синтезированных полипептидных цепей белков, определяющая точность реализации генетической информации,

зависит от функционирования белков теплового шока (HSP), выполняющих функцию молекулярных шаперонов. Особенная роль белков этого семейства выражается в том, что они принимают участие как в нормальной клеточной физиологии в качестве молекулярных шаперонов, так и в стрессовых условиях, обеспечивая адаптационную и стрессовую толерантность.

HSP-70 – один из основных кардиопротекторных стрессовых белков, участвующих в патогенезе гипертонии, атеросклерозе, коронарной сердечной недостаточности. Сердечный HSP-70 экспрессируется при гипертермии, ишемии, гипоксии, воздействии эндотоксинов [32, 33]. Интересно, что пред-индукция сердечного HSP-70 защищает миокард от последствий ишемии, воздействия эндотоксинов и кровоизлияния. Кардиопротективный эффект экспрессии HSP достаточно хорошо освещен в литературе при ишемическом инфаркте и инсульте [34–36]. Доказано, что пониженный уровень циркулирующих HSP-70 является предвестником развития атеросклероза у лиц с гипертонией, а повышенный – способствует снижению риска развития атеросклероза и может модифицировать его прогрессирование у этой группы больных [37].

Семейство HSP-70 кодируется тремя полиморфными генами: *HS-70-1*, *HSP-70-2* и *HSP-70-HOM*, причем *HSP-70-1*, *HSP-70-2* кодируют индуцибельные белки, а *HSP-70-HOM* – конститутивный белок. Полиморфные сайты *HSP-70-2*, *HSP-70-HOM* расположены в кодирующем регионе и влияют на структуру антигенсвязывающих эпитопов [38].

Гены, кодирующие этот комплекс регуляторных белков, обладают полиморфизмом в точках, влияющих на уровень их продукции и структурные параметры белковых молекул. Ассоциированность их аллельных вариантов с количественными и функциональными параметрами регуляторных молекул ставит вопрос о зависимости клинического течения атеросклероза и его коронарных сосудистых осложнений от полиморфизма этих генов, присутствующих в геноме пациента. В связи с этим нами проведен анализ характера распределения аллельных вариантов генов в рандомизированных группах пациентов, перенесших в анамнезе острый инфаркт миокарда в сопоставлении с людьми аналогичного возраста, проживающих в аналогичных социально-бытовых и климатических условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами обследованы пациенты трех кардиологических отделений больниц г. Новокузнецка с диагнозом ишемическая болезнь сердца (ИБС)

в возрасте от 35 до 84 лет. Все они являлись работниками металлургических комбинатов – трудились в неблагоприятных условиях труда. Больных поделили на группы. В первую вошли 36 пациентов с нестабильной стенокардией (НСК). Сюда были отнесены пациенты со стенокардией либо впервые возникшей, прогрессирующей, либо спонтанной (вариантной). Вторая группа – 208 мужчин с ИМ в анамнезе. Среди них 77,6 % пациентов с ИМ с зубцом Q, 22,4 % – без зубца Q («ИМ с Q» – крупноочаговый или трансмуральный, «ИМ без Q» – мелкоочаговый или субэндокардиальный). Диагностика ИМ проводилась по стандартным показателям.

Контрольную группу составили 97 практически здоровых лиц, этнически и географически соответствующие исследуемой группе пациентов. Кроме того, учитывая, что внешние факторы значимы при развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), контрольная группа была набрана из работников этих же предприятий, сопоставимых по полу и возрасту.

Исследовался однонуклеотидный SNP-полиморфизм промоторного региона генов *TNF-A* –863C→A, *TNF-A* –308G→A, *TNF-A* –238G→A, *IL-1β* –511T→C, *IL-1β* –31C→T, *IL-6* –174G→C. Генотипирование осуществляли методом рестриктоного анализа продуктов амплификации (RFLP– restriction fragment length polymorphism). Участки промоторного региона генов амплифицировали с использованием пары специфичных праймеров [39–41], затем продукты амплификации подвергали гидролизу эндонуклеазами рестрикции («СибЭнзим», Новосибирск). Электрофорез проводили в 2 % агарозном геле.

Статистическая обработка результатов исследований включала расчет таких показателей, как частота встречаемости генов, генотипов и их комбинаций, специфичность (вероятность отрицательного результата диагностического теста в отсутствии изучаемого признака), отношение шансов (OR – odds ratio) с расчетом 95 % доверительного интервала (95 % Confidence Interval – 95 % CI) [42–45].

Частоту аллелей генов цитокинов вычисляли методом прямого подсчета по формуле: $f = n/2N$, где n – количество раз встречаемости аллеля (у гомозигот он учитывался дважды); $2N$ – удвоенная численность обследованных.

Частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций определяли как процентное отношение индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных в группе по формуле: $f = n/N$, где n – количество раз встречаемости генотипа (комбинации); N – численность обследованных.

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга [42]. Достоверность различий частот распределения изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по критерию χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность и двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц [46].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследовался полиморфизм трех позиций промоторного региона гена *TNF-A* у пациентов с ИБС, развитием НСК и ИМ. В изучаемой нами контрольной группе частоты аллелей и генотипов исследуемых полиморфных позиций гена *TNF-A* соответствуют показанным для европеоидных популяций. Частоты генотипов *G*–238A, *G*–308A, *C*–863A гена фактора некроза опухоли *TNF-A* в исследуемых группах находятся в равновесии Харди–Вайнберга. Выявлено, что частота мутантного аллеля –238A увеличена у всех групп пациентов с исследуемыми патологиями по сравнению с группой контроля (табл. 1). Анализ частот генотипов в позиции –308 показал, что гетерозиготность у пациентов

Таблица 1
Ассоциация полиморфизма *TNF-A*
с развитием ИБС, НС и ИМ

Поли- мор- физм <i>TNF-A</i>	ИБС, %	OR	НСК, %	OR	ИМ, %	OR	Здоровые, %
–238	N=164		N=33		N=114		N=97
A/A	2,44	2,40	3,04	3,00	2,63	2,59	1,03
A/G	14,63	1,34	15,15	1,40	14,91	1,37	11,34
G/G	82,93	0,69	81,81	0,64	82,46	0,66	87,63
A	9,76	1,51	10,60	1,65	10,09	1,56	6,70
G	90,24	0,66	89,40	0,61	89,91	0,64	93,30
–308	N=179		N=36		N=125		N=97
A/A	4,50	4,49	0	0	6,40	6,56*	1,03
A/G	16,20	0,56*	22,22	0,82	12,00	0,39**	25,77
G/G	79,30	1,41	77,78	1,96	81,60	1,62	73,19
A	12,60	0,89	11,11	0,77	12,40	0,88	13,92
G	87,40	1,12	88,89	1,29	87,60	1,14	86,08
–863	N=181		N=36		N=127		N=97
A/A	1,10	2,71	2,77	8,24	0,79		0
A/C	17,13	0,85	13,88	0,66	18,90	0,96	19,59
C/C	81,77	1,09	83,32	1,33	80,31	0,99	80,41
A	9,67	0,99	9,73	0,99	10,24	1,05	9,79
C	90,33	1,01	90,27	1,01	89,76	0,95	90,21

Примечание. Относительно здоровых лиц:
* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,005$.

Таблица 2

Особенности распределения генотипов *IL-1β* у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, и здоровых лиц

Полиморфизм	ИМ, %	Здоровые, %	95 % CI <OR>	χ^2	<i>p</i>
<i>IL-1β -31</i>	<i>N</i> =182	<i>N</i> =92			
<i>C/C</i>	9,89	16,30	0,25<0,56>1,25	3,31	0,191
<i>C/T</i>	50,55	41,31	0,85<1,45>2,49		
<i>T/T</i>	9,56	42,39	0,52<0,89>1,53		
<i>IL-1β -511</i>	<i>N</i> =208	<i>N</i> =95			
<i>C/C</i>	33,65	40,00	0,45<0,76>1,30	1,56	0,458
<i>C/T</i>	51,92	49,47	0,66<1,10>1,85		
<i>T/T</i>	14,42	10,53	0,64 <1,43>3,30		
<i>IL-1β-31/-511</i>	<i>N</i> =176	<i>N</i> =91		18,31	0,0106
<i>CC/CT</i>	0	5,50	0,00<0,00>0,58		0,004
<i>CC/TT</i>	9,66	9,89	0,39<0,97>2,48		0,874
<i>CT/CC</i>	5,68	2,20	0,85<2,68>9,42		0,105
<i>CT/CT</i>	47,72	38,46	0,85<1,46>2,53		0,188
<i>CT/TT</i>	0,57	1,10	0,05<0,51>5,14		0,885
<i>TT/CC</i>	26,14	38,46	0,32<0,57>1,01		0,052
<i>TT/CT</i>	9,66	4,39	0,71<2,33>8,46		0,202
<i>TT/TT</i>	0,57	0	0,39<1,52>1,66		0,659

с ССЗ достоверно снижалась. При этом наблюдалось достоверное снижение частоты встречаемости признака у пациентов с ИБС (OR = 0,56, *p* = 0,021) и ИМ (OR = 0,39, *p* = 0,004). Носительство варианта *-308AA* в группе с ИМ возросло до 6,40 % относительно здоровых, где эта величина не превышала 1,03 % (OR = 6,56, *p* = 0,037). Анализ SNP-полиморфизма в позиции *-863* не выявил достоверных различий между группами с сердечно-сосудистой патологией и здоровыми, что соответствует данным исследований влияния полиморфизма в этой позиции на развитие ИБС и ИМ у европейцев [47].

Данные анализа частоты носительства исследуемых позиций промоторного региона гена *TNF-А* при развитии НСК и ИМ у пациентов с ИБС показали, что гетерозиготность в позиции *-308* способствовала устойчивости к развитию инфаркта миокарда у пациентов с ИБС (OR = 0,40, 95 %, *p* = 0,017). При анализе влияния полиморфизма промоторного региона гена *TNF-А* на развитие ИМ у пациентов с предшествующим случаем НСК вновь наблюдалось снижение риска развития ИМ у носителей гетерозиготного варианта гена в позиции *-308* (OR = 0,11, *p* = 0,015). Показано, что в группе пациентов с ИМ с зубцом Q частота генотипа *-308AA* возрастает до 7,29 % относительно 1,03 % у здоровых (OR = 7,55, *p* = 0,028). Кроме того, протективная роль гетерозиготного носительства сохраняется (OR = 0,33, *p* = 0,003).

При анализе характера распределения аллелей и генотипов гена *IL-1β* установлено, что частоты генотипов *IL-1β C-31 /T* и *IL-1β T-511C* в группе здоровых и пациентов с ИМ находятся в равновесии Харди-Вайнберга. Расчет параметров сцепления между локусами позволил установить достоверное неравновесное сцепление между *IL-1β C-31T (rs1143627)* и *IL-1β T-511C (rs16944)*. Частоты гаплотипов в группах здоровых и пациентов с ИМ показали, что с суммарной частотой 93,2 % у здоровых и 90,72 % у пациентов выявлялись гаплотипы *IL-1β-31C/-511T* и *IL-1β-31T/-511C*, однако и в группе больных, и в группе здоровых присутствовали минорные не сцепленные гаплотипы по двум полиморфным позициям промоторного региона гена.

Сравнительный анализ сложного генотипа выявил достоверные различия между группами здоровых и пациентов с ИМ в анамнезе именно по частотам генотипов, содержащих минорные гаплотипы. Так, генотип *IL-1β -31CC/-511CT*, отсутствующий у пациентов с ИМ, выявляется в группе здоровых с частотой 5,5 % (табл. 2).

Учитывая, что на развитие патологии существенное влияние оказывают внешние факторы,

мы провели анализ полиморфизма промоторного региона гена *IL-1β* у пациентов с учетом индекса массы тела (ИМТ) как регулируемого фактора и возраста в качестве нерегулируемого фактора риска ИМ. Показано, что частота генотипа *IL-1β -31CC* достоверно снижена в группе пациентов с нормальным ИМТ относительно здоровых лиц. При делении пациентов с ИМ на группы по возрасту случая острого инфаркта миокарда до 55 лет и от 56 лет и старше показано, что частота генотипа *IL-1β-31CC/-511CT* статистически значимо различается только в группе пациентов со случаем ИМ до 55 лет относительно здоровых лиц и близка к достоверно различаемым признакам (*p* = 0,051) в группе пациентов более старшего возраста.

Функциональные полиморфные варианты генов, кодирующие белки IL-1, могут оказывать влияние не только на предрасположенность к развитию болезни, но и на характер ее течения. SNP-полиморфизм *IL-1β* в позициях *T-511C* и *C-31T* неоднократно связывали с рядом патологий, включая ССЗ [48], а также с различиями в уровнях *IL-1β in vivo* [49, 50]. По заключению ряда исследований, именно полиморфизм *IL-1β-31*, расположенный в пределах *TATA-box* промоторного региона, связан с регуляторной экспрессии гена и индукцией белка [17, 49]. Выявлено, что в популяции русских европеоид-

дов Сибири типизируемые полиморфные позиции промоторного региона гена *IL-1β* и в группе пациентов с ИМ, и в группе здоровых находятся в неравновесном сцеплении, что ранее показано для ряда популяций. Предположительно неравновесное сцепление между *IL-1β T-511C* и *C-31T* основано на *цис*-взаимодействии [19, 51]. Результаты проведенного нами исследования показали, что в достаточно представительной группе пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда, ни в одном случае не выявлен генотип *CC/CT* в позиции *IL-1β -31/-511*, тогда как частота его распространения в группе здоровых лиц составляет 5,5 % ($p = 0,004$). Близким к значимым различиям оказалось и снижение среди пациентов частот встречаемости генотипа *TT/CC IL-1β-31/-511* ($p = 0,052$) по сравнению с группой здоровых лиц того же возраста. В нашем исследовании при отсутствии статистически значимых различий частоты генотипа *IL-1β -511TT* частота генотипа *IL-1β -31CC* снижена у пациентов с нормальным ИМТ относительно здоровых. Поскольку ни в общей группе пациентов, ни в группе пациентов с увеличенным ИМТ относительно здоровых каких-либо различий мы не обнаружили, можно было бы предполагать протективную роль данного генотипа относительно развития ИМ, а возникновение острого коронарного случая в группе с этим генотипом — следствие внешних факторов риска, в том числе и высокого ИМТ. Учитывая эффект неравновесного сцепления двух исследуемых позиций, провели анализ частот сложных генотипов гена *IL-1β* и выявили достоверное снижение частоты *IL-1β-31CC/-511CT* в общей группе пациентов. При анализе частот генотипов с учетом ИМТ и возраста пациентов этот эффект сохраняется у лиц молодого возраста относительно здоровых.

Частоты генотипов гена *IL-6 G-174C* в исследуемых группах находятся в равновесии Харди-Вайнберга. Нами выявлено достоверное снижение генотипа *IL-6 -174GG* у пациентов с ИМ относительно здоровых лиц, а также тенденция к увеличению массы тела, ИМТ и индекса атерогенности, уровня диастолического давления и снижение индекса курительщика у пациентов с ИМ и генотипом *IL-6 -174GG*. В донорской группе тенденция к увеличению массы тела, ИМТ, диастолического артериального давления (АД) у носителей генотипа *IL-6 -174GG* сохраняется, что может свидетельствовать о возможной ассоциированности анализируемых показателей с исследуемым полиморфизмом независимо от патологии. Сравнительный анализ по отдельным факторам риска между группой па-

Таблица 3
Сравнительный анализ отдельных факторов риска между группой пациентов ИМ и группой здоровых лиц с разными генотипами

Параметр	Пациенты с ИМ	Здоровые	p
	Генотип <i>IL-6-174 CC</i>		
	N=43	N=12	
Возраст	54,09±9,132	52,64±5,836	0,369
Стаж курения	19,23±15,659	21,000±14,731	0,791
Индекс курительщика	175,38±126,004	169,091±96,068	0,624
Масса тела	77,36±12,822	72,450±10,482	0,175
Индекс массы тела	26,29±3,868	23,941±2,885	0,049
АД систолическое	136,416±17,896	126,360±8,090	0,107
АД диастолическое	89,041±9,406	78,940±5,983	0,002
	Генотип <i>IL-6-174 CG</i>		
	N=106	N=47	
Возраст	53,56±7,603	51,96±4,107	0,189
Стаж курения	23,03±14,637	24,980±14,121	0,295
Индекс курительщика	168,95±113,204	177,454±104,642	0,706
Масса тела	77,79±14,141	74,43±10,025	0,218
Индекс массы тела	26,59±4,987	24,857±2,854	0,038
АД систолическое	145,530±25,578	122,660±9,883	0,000
АД диастолическое	93,172±13,851	79,921±3,015	0,000
	Генотип <i>IL-6-174 GG</i>		
	N=51	N=35	
Возраст	53,66±7,202	51,83±3,861	0,240
Стаж курения	18,96±16,112	21,370±17,285	0,476
Индекс курительщика	130,96±130,750	141,267±123,551	0,737
Масса тела	79,14±14,008	74,860±10,247	0,275
Индекс массы тела	26,72 ±3,505	25,242±2,962	0,047
АД систолическое	145,00±27,336	125,57±9,217	0,006
АД диастолическое	94,857±14,447	79,861±5,397	0,000

циентов с ИМ и здоровыми лицами (табл. 3) выявил ряд достоверных различий у носителей разных генотипов. При анализе зависимости факторов риска ИМ от генотипа *IL-6 G-174C* выявлены определенные закономерности. В группах с генотипом *IL-6 -174CC* между пациентами и контролем сохраняются достоверные различия

Частота генотипов и аллелей *MMP-2* и *MMP-9* у пациентов с ИБС, НСК и ИМ

Полиморфизм	ИБС, %	OR	НСК, %	OR	ИМ, %	OR	Здоровые, %
<i>MMP-9</i> –1562	N=180		N=71		N=126		N=95
<i>C/C</i>	60	0,63*	59,15	0,61*	62,70	0,70	70,53
<i>CT + TT</i>	40,0	1,60*	40,85	1,65*	37,30	1,35	29,47
<i>C</i>	79,44	0,75*	78,87	0,73	81,35	0,85	83,68
<i>T</i>	20,56	1,33*	21,13	1,37	18,65	1,17	16,32
<i>MMP-2</i> –1306	N=107		N=39		N=84		N=94
<i>C/C</i>	59,81	1,37	51,28	0,97	58,34	1,29	52,12
<i>CT + TT</i>	40,18	0,73	48,71	1,03	41,66	0,78	47,88
<i>C</i>	78,04	1,43*	73,08	1,09	76,78	1,33*	71,27
<i>T</i>	21,96	0,70*	26,92	0,91	23,22	0,75*	28,73

* $p \leq 0,05$.

по таким факторам риска, как ИМТ и диастолическое АД. У носителей *IL-6 -174G* в генотипе различия по этим показателям более значимые. Разница в уровнях систолического АД между больными и здоровыми, характерная для общих групп, выявляется только для пациентов с генотипами *IL-6 -174CG* и *IL-6 -174GG*. Учитывая, что в сформированной нами группе здоровых мужчин большинство являлись курильщиками, причем индекс курильщика в группе был достаточно высок, мы проанализировали курение как фактор риска ИМ в двух группах в зависимости от исследуемого генотипа. При сравнении группы курящих пациентов с некурящими здоровыми мужчинами показано, что наличие генотипа *IL-6 -174C* являлось дополнительным фактором риска заболевания.

Частоты генотипов *C-1306T* и *C-1562T* гена *MMP-9* в группе здоровых находятся в равновесии Харди–Вайнберга. Проведенный анализ частот генотипов выявил достоверное снижение частоты гомозигот *MMP-9-1562CC* в группе больных с атеросклерозом ($OR = 0,63$, $p = 0,02$) относительно здоровых мужчин, что сохранилось и в группе пациентов с развитием НСК ($OR = 0,61$, $p = 0,04$). Доля генотипов с минорным аллельным вариантом *MMP-9-1562CT* и *MMP-9-1562 TT* достоверно увеличена в этих группах до 40 % у пациентов с атеросклерозом и 40,85 % у пациентов с НСК в анамнезе относительно здоровых, где эта величина составляет 29,47 % ($OR = 1,60$, $p = 0,02$ и $OR = 1,65$, $p = 0,04$ соответственно). Не выявлено каких-либо достоверных различий при анализе распределения генотипов *MMP-2* в группах с патологиями относительно контрольной группы (табл. 4). При делении группы пациентов с ИМ на подгруппы с ранним случаем ИМ (до 55 лет включительно)

и с ИМ после 55 лет и старше выявлено достоверное увеличение в младшей возрастной группе генотипа с повышенной транскрипционной активностью гена *MMP-9* относительно старшей возрастной группы ($OR = 2,19$, $p = 0,01$). В старшей возрастной группе достоверно увеличивается генотип *MMP-9-1562CC* относительно младшей возрастной группы и процентное соотношение генотипов *MMP-9-1562CC* и *MMP-9-1562CT+TT* приближается к распределению в группе здоровых лиц. Напротив, для гена *MMP-2* в группе с ранним ИМ в анамнезе характерно снижение генотипа с высокой промоторной активностью ($OR = 0,39$, $p = 0,01$) и увеличение частоты генотипа с минорным *T* аллельным вариантом ($OR = 2,58$, $p = 0,01$). Подобная закономерность сохраняется и при анализе частот генотипов промоторных регионов генов в двух возрастных группах относительно группы контроля. Риск развития ИМ достоверно выше у носителей генотипа *MMP-9* с высокой транскрипционной активностью у лиц молодого возраста ($OR = 2,21$, $p = 0,01$), а у носителей генотипа *MMP-2-1306CC* выше риск развития ИМ в более зрелом возрасте ($OR = 2,03$, $p = 0,02$).

Частоты генотипов *HSP-70-2* и *HSP-70-НОМ* в группе здоровых и пациентов с ИМ находятся в равновесии Харди–Вайнберга. Анализ частот гаплотипов не выявил достоверных различий анализируемых полиморфных позиций двух генов (табл. 5). Учитывая, что на развитие патологии существенное влияние оказывает целый ряд регулируемых и нерегулируемых факторов, мы провели анализ полиморфизма анализируемых генов у пациентов с учетом ИМТ как регулируемого фактора и возраста в качестве нерегулируемого фактора риска ИМ. Частота *HSP-70-НОМ* гетерозиготного варианта достоверно

Таблица 5

Особенности распределения генотипов *HSP-70-2* и *HSP-70-HOM* у пациентов, перенесших ИМ, и здоровых лиц

Полиморфизм	ИМ, %	Здоровые, %	95 % CI <OR>	χ^2 , <i>df</i> , <i>p</i>
<i>HSP-70-2</i>	<i>N</i> =90	<i>N</i> =95		
<i>A/A</i>	40,00	41,05	0,51<0,96 >1,80	$\chi^2 = 0,06$
<i>A/G</i>	52,22	50,53	0,58<1,07 >1,99	<i>df</i> = 2
<i>G/G</i>	7,78	8,42	0,28<0,92 >2,94	<i>p</i> = 0,969
<i>HSP-70-HOM</i>	<i>N</i> =55	<i>N</i> =91		
<i>T/T</i>	7,27	5,50	0,29<1,35 >6,14	$\chi^2 = 1,48$
<i>T/C</i>	34,54	26,37	0,67<1,47 >3,24	<i>df</i> = 2
<i>C/C</i>	58,19	68,13	0,31 <0,65>1,38	<i>p</i> = 0,477

выше в группе с ИМТ выше 25 относительно здоровых ($OR = 3,07$, $p = 0,039$), а частота *HSP-70-HOM* *CC* гомозиготного варианта, напротив, достоверно снижена в группе пациентов с ИМТ выше 25 относительно здоровых ($OR = 0,29$, $p = 0,020$). При сравнении частот генотипов между группами пациентов с ИМТ выше 25 и пациентов с нормальным ИМТ достоверные различия сохраняются как для частот гетерозиготного ($OR = 5,22$; $p = 0,033$), так и для гомозиготного ($OR = 0,22$, $p = 0,036$) варианта.

Как видно из представленных выше результатов, каждый из проанализированных нами полиморфных участков генов, продукты которых принимают непосредственное участие в развитии как атеросклероза, так и его коронарных осложнений, в той или иной степени ассоциирован с развитием заболевания. Встает закономерный вопрос: как будет меняться характер такой ассоциированности при сочетании в геноме одного пациента ряда таких ассоциированных генотипов. С этой целью проведен анализ распределения в группах здоровых мужчин и мужчин, перенесших ОИМ, комбинированных генетических признаков, представленных в виде комплекса генотипов целого ряда исследованных генов цитокинов. В сопоставляемых группах проведен анализ частот встречаемости сочетаний генотипов цитокинов *A-863C TNFA*; *A-308G TNFA*; *G-238A TNFA*; *T-31C IL-1 β* ; *C-511T IL-1 β* ; *C-590T IL-4*; *C-174G IL-6*; *G -1082A IL-10* и *A-592C IL-10*.

Результаты показали, что среди пациентов, перенесших ОИМ, вместо теоретически возможных в популяции 262 143 вариантов комбинаций генотипов или 84 783 — с поправкой на численность обследованных, на практике выявляется лишь 30 058 комбинаций. Это свидетельствует о том, что значительное количество комбинаций генотипов как среди здоровых мужчин, так и среди пациентов не встречается в природе и, следовательно, элиминируются из популяции

как несовместимые с условиями формирования и жизнеспособности организма на ранних стадиях онтогенеза. Среди последних частота 392 достоверно различается между группами здоровых и больных мужчин с уровнем достоверности различий двустороннего критерия Фишера менее 0,05. 195 из них удовлетворяют значениям 95 % доверительного интервала.

Среди пациентов, перенесших ОИМ, выявляется целый ряд комбинаций генотипов, частота которых значительно (в несколько раз) превышает частоту их распределения среди здоровых лиц (табл. 6). При этом величины показателя отношения шансов (OR) и специфичности достигают весьма высоких значений, что свидетельствует о значительной степени ассоциированности развития ОИМ с этими комбинированными генетическими признаками. Среди генов, вошедших в эти комбинации, выявляются в основном варианты генов цитокинов с выраженной провоспалительной активностью *IL-1 β* и *TNF-A*. Обращает на себя внимание, что широко представленные в этом перечне гомозиготные варианты генов этих цитокинов ассоциируются с низким уровнем продукции самих цитокинов. Это может говорить о том, что конституционально обусловленный низкий уровень продукции провоспалительных цитокинов является одним из генетических факторов, предрасполагающих мужчин к развитию ОИМ.

Провоспалительный цитокин $TNF-\alpha$ является ключевым медиатором формирования и прогрессирования атеросклеротических поражений сосудов, и повышение его продукции рассматривают как одну из важных причин дестабилизации ИБС [52–54]. Концентрация в плазме $TNF-\alpha$ ассоциирована со степенью развития раннего атеросклероза и коррелирует с метаболическим и клеточным изменениями, считающимися важными для васкулярных процессов [1]. В независимо проведенных исследованиях анализа SNP-полиморфизма в позициях –238,

Частота комбинированных генетических признаков, позитивно ассоциированных с развитием острого инфаркта миокарда у мужчин, %

Точки полиморфизмов генов	Генотип	Частота среди пациентов с ОИМ	Частота среди здоровых мужчин	OR	OR_CI95	P_TMF-2	Специфичность
IL6-174	C	47,24	37,37	1,50	1,06–2,13	0,0231	62,63
TNF-863:IL-1B-31	CA-TC	14,01	3,30	4,78	1,39–16,45	0,0076	96,70
TNF-863:IL-4-590	CA-CT	14,46	5,32	3,01	1,11–8,17	0,0249	94,68
IL4-590:IL-6-174	CC-CC	12,73	4,26	3,28	1,09–9,87	0,0287	95,74
TNF-863:TNF-308:IL-1B-31	CA-GG-TC	12,10	3,30	4,04	1,16–14,05	0,0200	96,70
TNF-863:TNF-308:IL-4-590	CA-GG-CT	12,80	4,26	3,30	1,10–9,94	0,0284	95,74
TNF-863:TNF-238:IL-1B-31	CA-GG-TC	12,74	2,20	6,50	1,48–28,48	0,0045	97,80
TNF-863:TNF-238:IL-4-590	CA-GG-CT	13,41	4,26	3,49	1,16–10,45	0,0185	95,74
TNF-863:IL1-B-511:IL1-B-31	CA-TC-TC	11,84	3,33	3,90	1,11–13,62	0,0314	96,67
TNF-863:IL-1B-31:IL-4-590	CA-TC-CT	8,50	1,11	8,26	1,06–64,28	0,0200	98,89
TNF-238:IL-1B-31:IL-4-590	GG-TC-CC	28,10	16,67	1,95	1,01–3,77	0,0446	83,33
IL1B-31:IL-10-1082:IL-10-592	TC-GG-CC	12,93	4,49	3,15	1,04–9,60	0,0411	95,51
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL-1B-31	CA-GG-GG-TC	10,83	2,20	5,40	1,22–23,95	0,0130	97,80
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL-4-590	CA-GG-GG-CT	12,27	4,26	3,15	1,04–9,51	0,0437	95,74
TNF-863:TNF-238:IL-1B-511:IL-1B-31	CA-GG-TC-TC	11,18	2,22	5,54	1,25–24,57	0,0124	97,78
TNF-863:TNF-238:IL-1B-31:IL-4-590	CA-GG-TC-CT	8,50	1,11	8,26	1,06–64,28	0,0200	98,89
TNF-308:TNF-238:IL-1B-511:IL-1B-31:IL-4-590	GG-GG-TC-TC-CT	16,67	6,74	2,77	1,09–7,03	0,0291	93,26

–308, –863 выявлена корреляция с уровнем транскрипционной активности промотора гена *TNF-A*, а следовательно, и с уровнем продукции фактора некроза опухоли [55–57].

Нами выявлено увеличение носительства –238A аллельного варианта у пациентов с патологиями относительно здоровых мужчин. При исследовании пациентов с ОИМ группой бразильских исследователей показано увеличение частоты мутантного генотипа в позиции –308 до 1,4 % относительно 0,6 % у здоровых (OR = 1,9) и выдвинуто предположение о существенном влиянии полиморфизма на участие *TNF-A* на процесс атерогенеза. Показано, что смертность от кардиогенного шока значительно ниже у носителей –308A аллельного варианта и имеет смысл типировать пациентов для прогнозирования течения патологии и коррекции терапии [58]. В исследованиях R. Antonicelli et al. [59] выявлена ассоциация –308A аллельного варианта не только с развитием ИМ, но и с высоким уровнем в плазме биохимических маркеров ишемии.

По результатам наших исследований, одновременное носительство в генотипе и мутантного, и дикого аллельного вариантов в позиции –308 промоторного региона гена *TNF-A* наи-

более благоприятно для поддержания физиологической нормы. У пациентов с ИБС и случаем НСК в анамнезе, несущих в генотипе –308*AG вариант, риск развития ИМ также достоверно снижен. Нами показан повышенный риск развития ИМ у пациентов с гомозиготным генотипом –308 AA относительно здоровых мужчин, что согласуется с приведенными выше данными.

Сходные данные получены и при анализе полиморфизма промотора гена другого провоспалительного цитокина *IL-1β*. Результаты проведенного нами исследования показали, что в достаточно представительной группе пациентов, перенесших ОИМ, ни в одном случае не выявлен генотип *CC/CT* в позиции *IL-1β* (–31/–511), тогда как частота его распространения в группе здоровых лиц составляет 5,5 % ($p = 0,004$). Близким к значимым различиям оказалось и снижение среди пациентов частот встречаемости генотипа *TT/CC IL-1β* (–31/–511) ($p = 0,052$) по сравнению с группой здоровых лиц того же возраста.

По данным ряда исследований наличие генотипа *IL-1β* –511TT свидетельствует о пониженном риске ИМ (95 % CI 0,20 < 0,36 < 0,64,

$p = 0,002$) и инсульта (95 % CI $0,13 < 0,32 < 0,81$, $p = 0,021$) у лиц моложе 45 лет при прочих равных факторах риска заболевания, что объясняется сниженной провоспалительной активностью IL-1 у носителей генотипа *TT* [48]. Однако преобладающее значение в регуляции экспрессии *IL-1 β* отводится именно функциональному полиморфизму *IL-1 β -31T > C* в районе *TATA-box*, и, по мнению большинства исследователей, на сегодняшний день нет однозначного ответа на вопрос, какой генотип – *IL-1 β -31T* или *IL-1 β -31C*, ответственен за повышенный уровень экспрессии белка [60, 61], возможно, из-за тесного взаимодействия с другими *SNP* типа *IL-1 β -511C > T* [49].

В нашем исследовании частота генотипа *IL-1 β -31CC* снижена у пациентов с нормальным ИМТ относительно здоровых лиц. Учитывая эффект неравновесного сцепления двух исследуемых позиций, мы провели анализ частот сложных генотипов гена *IL-1 β* и выявили достоверное снижение частоты *IL-1 β -31CC/-511CT* в общей группе пациентов. При анализе частот генотипов с учетом ИМТ и возраста пациентов этот эффект сохраняется у лиц молодого возраста относительно здоровых лиц.

Выявлена ассоциация полиморфизма *IL-1 β -31T* с увеличенным ИМТ, однако механизм подобной ассоциации остается неизвестен [62]. Возможно, что генетически обусловленный уровень продукции IL-1 влияет на уровень экспрессии и активность липопротеинлипазы (LPL), которая в свою очередь гидролизует триглицерид – богатые липопротеины. Показано, что IL-1 супрессирует инсулинзависимый транспорт глюкозы в адипоциты и стимулирует инсулинрезистентность в адипоцитах. Поскольку инсулинрезистентность также подавляет активность LPL и является препятствием к катаболизму липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), продукция ЛПОНП в печени повышается, что приводит к гиперлипидемии и ожирению [63]. Показано, что у носителей генотипа *IL-1 β -31 TT* уровни сывороточного общего холестерина и триглицеридов выше, а HDL-холестерина ниже, чем у носителей генотипа *IL-1 β -31CC* [64].

Нами установлены достоверные различия между группой пациентов, перенесших ИМ, и здоровыми лицами по уровню систолического и диастолического АД. При анализе уровня АД у пациентов с разными генотипами относительно группы здоровых лиц с тем же генотипом выяснилось, что при наличии генотипа *IL-6 CC* достоверные различия выявляются только для показателя диастолического давления. При наличии генотипа *IL-6*CG* или *IL-6 GG* существу-

ют достоверные различия между пациентами и здоровыми по уровню и систолического, и диастолического давления, причем уровень достоверности у носителей *IL-6 G* по последнему показателю существенно выше, чем при наличии *IL-6*CC* генотипа. В нашем исследовании разница в уровнях систолического давления у пациентов с *IL-6 G* в генотипе была примерно на 10 mmHg выше, чем у пациентов с *IL-6 CC*, что увеличивает риск развития острого коронарного случая. Что касается ИМТ, который преимущественно используют для определения степени ожирения, нами выявлены достоверные различия между больными и здоровыми лицами, причем достоверность различий выше между пациентами и здоровыми с аллелем *G* в генотипе. По некоторым данным, именно наличие *IL-6 G* коррелирует с развитием ожирения и инсулинорезистентностью [65]. Поскольку до 30 % плазменного уровня IL-6 обеспечивается жировой тканью, предполагается, что увеличение ее количества может приводить и к увеличению плазменного уровня IL-6 и таким образом усиливать системный провоспалительный процесс [15].

Матриксные металлопротеиназы играют важную роль в развитии ССЗ и прогрессии атеросклеротического процесса в частности. В ряде работ показано существенное повышение уровня *MMP-2* и *MMP-9* при острых коронарных синдромах, наблюдается ассоциация между промоторным полиморфизмом гена *MMP-9* и тяжестью коронарного атеросклероза при аутопсийных исследованиях [30, 66, 67]. Мы проанализировали промоторный полиморфизм *MMP-2(-1306) C \rightarrow T* и *MMP-9 (-1562) C \rightarrow T* в группах пациентов с атеросклерозом и развитием нестабильной стенокардии и инфаркта миокарда в анамнезе и показали, что у лиц с генотипом *MMP-9*, содержащим аллельный вариант с высокой транскрипционной активностью, риск развития атеросклероза и нестабильной стенокардии достоверно выше, чем у носителей генотипа *MMP-9 (-1562) CC*. Ранее выявлено достоверное увеличение генотипов *MMP-9C/T +T/T* в группе пациентов с атеросклеротическим повреждением сосудов и показано, что у пациентов, имеющих минорный аллельный вариант *MMP-9T* в генотипе, риск развития коронарного стеноза в 1,5 раза выше, чем у пациентов с генотипом *MMP-9CC*. Генотип *MMP-9C/C* является потенциальным генетическим протективным фактором развития атеросклероза [68, 69].

Учитывая, что аллельный вариант *(-1562)T* связан с повышенным уровнем транскрипции *MMP-9*, а частота встречаемости минорного ал-

лельного варианта (-1562) *T в группе больных с исследуемыми патологиями увеличивается, мы предположили, что функциональный полиморфизм гена MMP-9 может являться одним из генетических факторов, влияющих на развитие ИМ. Показано, что минорный аллельный вариант MMP-9 (-1562)T способствует более скорой прогрессии атеросклеротического процесса и ускоряет процесс дестабилизации атеросклеротической бляшки [26, 66, 68, 70]. По данным ряда опубликованных результатов частота генотипа MMP-2 (-1306) CC и аллельного варианта MMP-2 (-1306) C в группе с патологиями коронарных артерий увеличивается, однако достоверных различий не найдено [71, 72].

Участие белков теплового шока в процессах атерогенеза и его последствий в настоящее время не подвергается сомнению. Показан высокий уровень HSP-70 в атеросклеротических бляшках, причем наибольшая концентрация наблюдается в центральной, более утолщенной части атеромы, вокруг участков некроза; сывороточные титры анти-HSP положительно связаны с риском ИБС [73, 74]. В ряде исследований анализировалась ассоциация полиморфизма HSP-70-1 с сердечно-сосудистыми патологиями, включая инфаркт миокарда [75, 76], выявлена ассоциация полиморфизма HSP-70-2 с ишемией у пациентов пожилого возраста [77], генотипов HSP-70-2 и HSP-70-HOM у пациентов с повышенным риском высококоронной болезни сердца [78].

Нами обнаружены достоверные различия между пациентами с ИМТ выше 25 и здоровыми, между пациентами с ИМТ выше 25 и пациентами с нормальным ИМТ по частотам генотипов HSP-70-HOM. Полиморфизм HSP-70-HOM в позиции 2437 соответствует замене Thr аминокислоты в позиции 493 на Met [37]. Согласно теории Pociot [40], замена Thr остатка (T аллельный вариант) может влиять на эффективность белка HSP-70-HOM как молекулярного шаперона, снижая силу гидрофобного взаимодействия между шапероном и целевым белком. С другой стороны, ген HSP-70-HOM, расположенный в регионе III класса комплекса HLA, может находиться в неравновесном сцеплении с генами HLA I и II или III класса.

Результаты показали, что исследование полиморфизма генов цитокинов и других регуляторных белков, участвующих в воспалении, при атеросклерозе и его сосудистых осложнениях открывают новые возможности в понимании сложных механизмов атерогенеза и воспаления. Необходимо продолжать исследования такого рода с максимально возможным вовлечением в анализ кандидатных полиморфных генов с ис-

пользованием программных методов анализа полученных результатов и выработкой комбинированных генетических признаков, пригодных для клинического применения в прогностических целях в роли ранних предикторов развития ОИМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Skoog T., Dicht W., Boquist S. et al. Plasma tumour necrosis factor α and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men // Eur. Heart J. 2002. Vol. 23. P. 376–383.
2. Young J., Libby P., Schonbeck U. Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis // Thrombosis and Haemostasis. 2002. Vol. 88(4). P. 554–567.
3. Entman M.L., Smith W.C. Postreperfusion inflammation: a model for reaction to injury in cardiovascular disease // Cardiovasc. Res. 1994. Vol. 28. P. 1301–1311.
4. Лутай М.И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез // http://www.rql.kiev.ua/cardio_j/2004/1/lutay.htm
5. Campbell R.D., Trowsdale J., Raquousis J. Map of the human major histocompatibility complex // Immunol Today. 1993. Vol. 14. P. 349–352.
6. Dalziel B., Gosby A.K., Bryson J.M., Catterson I.D. Association of the TNF α -308 G/A promoter polymorphism with insulin resistance and dyslipidaemia in an obese Australian population // Obesity Res. 2002. Vol. 10. P. 401–407.
7. Lusis A.J., Fogelman A.M., Fonarow G.C. Genetic basis of atherosclerosis. II. Clinical implications // Circulation. 2004. Vol. 110. P. 2066–2071.
8. Борова О.Т., Чукаева И.И. Инфаркт миокарда. Воспаление и прогноз // Рос. кардиол. журн. 2003. № 4. С. 18–23.
9. Crea F., Biasucci L.M., Buffon A. et al. Role of inflammation in the pathogenesis of unstable coronary artery disease // Am. J. Cardiol. 1997. Vol. 80. P. 10E–16E.
10. Gabriel A.S., Ahnve S., Wretling B., Martinsson A. IL-6 and IL-1 receptor antagonist in stable angina pectoris and relation of IL-6 to clinical findings in acute myocardial infarction // J. Intern. Med. 2000. Vol. 248. P. 61–66.
11. Ridker P.M., Rifai N., Stampfer M.J., Hennekens C.H. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men // Circulation. 2000. Vol. 101. P. 1767–1772.
12. Brull D.J., Montgomery H.E., Sanders J. et al. Atherosclerosis and Lipoproteins Interleukin-6 Gene -174G>C and -572G>C Promoter Polymorphisms Are Strong Predictors of Plasma Interleukin-6 Levels After Coronary Artery Bypass Surgery // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2001. Vol. 21. P. 1458–1463.
13. Fernandez-Real J.-M., Broch M., Vendrell J. et al. Interleukin-6 Gene Polymorphism and Lipid Abnormalities in Healthy Subjects // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2000. Vol. 85. P. 1334–1339.
14. Bennermo M., Held C., Stemme S. et al. Genetic Predisposition of the Interleukin-6 Response to Inflammation: Implications for a Variety of Major Diseases? // Clinical Chemistry. 2004. Vol. 50(11). P. 2136–2140.

15. **Humphries S.E., Luong L.A., Ogl M.S. et al.** The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men // *Eur. Heart J.* 2001. Vol. 22. P. 2243–2252.
16. **Jones K.G., Brull D.J., Brown L.C. et al.** Interleukin-6 (*IL-6*) and the Prognosis of Abdominal Aortic Aneurysms // *Circulation.* 2001. Vol. 103. P. 2260–2265.
17. **Kim S.-H., Mok J.-W., Kim H.-S., Joo C.K.** Association of -31T>C and -511 C>T polymorphisms in the interleukin 1 beta (*IL-1B*) promoter in Korean keratoconus patients // *Molecular Vision.* 2008. Vol. 14. P. 2109–2116.
18. **Ruzzo A., Graziano F., Pizzagalli F. et al.** Interleukin 1B gene (*IL-1B*) and interleukin 1 receptor antagonist gene (*IL-1RN*) polymorphisms in Helicobacter pylori-negative gastric cancer of intestinal and diffuse histotype // *Annals of Oncology.* 2005. Vol. 16(6). P. 887–892.
19. **Lai J., Zhou D., Xia S. et al.** Association of interleukin-1 gene cluster polymorphisms with ischemic stroke in a Chinese population // *Neurol India.* 2006. Vol. 54. P. 366–369.
20. **Громова А.Ю., Симбирцева А.С.** Полиморфизм генов семейства *IL-1* человека // *Цитокины и воспаление.* 2005. № 2. С. 3–12.
21. **El-Omar E.M., Carrington M., Chow W.H.** Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer // *Nature.* 2000. Vol. 404. P. 398–402.
22. **Панченко Е.П.** Механизмы развития острого коронарного синдрома // *Рос. мед. журн.* 2000. № 8. С. 359–370.
23. **Shah P.K., Falk E., Badimon J.J.** Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques. Potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture // *Circulation.* 1995. Vol. 92. P. 1565–1569.
24. **Козулин В.Ю.** Российские рекомендации по лечению острого коронарного синдрома // <http://www.infarktu.net/catalog/professional/1/articles>
25. **Wilhelm S.M., Collier I.E., Marmer B.L. et al.** SV40-transformed human lung fibroblasts secrete a 92-kDa type IV collagenase which is identical to that secreted by normal human macrophages // *J. Biol. Chem.* 1989. Vol. 264. P. 17213–17221.
26. **Pollanen P.J., Karhunen P.J., Mikkelsen J., Laippala P.** Coronary artery complicated lesion area is related to functional polymorphism of matrix metalloproteinase 9 gene: An autopsy study // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. Vol. 21. P. 1446–1450.
27. **Королева О.С., Затеищikov Д.А.** Биомаркеры в кардиологии: регистрация внутрисосудистого воспаления // *Фарматека. Кардиология и общая терапия.* 2007. Vol. 8/9. С. 30–36.
28. **Inokubo Y., Hanada H.L.** Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome // *Am. Heart J.* 2001. Vol. 141. P. 211–217.
29. **Kondraka S.B., Fridman R., Reddy K.V.** Epidermal growth factor and amphiregulin up-regulate matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in human breast cancer cells // *Int. J. Cancer.* 1997. Vol. 70. P. 722–726.
30. **Zhang B., Herrmann S.M., Eriksson P. et al.** Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis // *Circulation.* 1999. Vol. 99. P. 1788–1794.
31. **Pollanen P.J., Lehtimaki T., Mikkelsen J. et al.** Matrix metalloproteinase 3 and 9 gene promoter polymorphisms: joint action of two loci as a risk factor for coronary artery complicated plaques // *Atherosclerosis.* 2005. Vol. 180. P. 73–78.
32. **Jayakumar J., Suzuki K., Khan M. et al.** Gene transfer for myocardial protection: transfection of donor hearts with heat shock protein 70 gene protects cardiac function against ischemia-reperfusion injury // *Circulation.* 2000. Vol. 102(3). P. 302–306.
33. **Jong P.R., Schadenberg A.W.L., Jansen N.J.G., Praken B.J.** HSP-70 and cardiac surgery: molecular chaperone and inflammatory regulator with compartmentalized effects // *Cell Stress and Chaperones.* 2009. Vol. 14. P. 117–131.
34. **Meng X., Harken A.H.** The interaction between HSP70 and TNF- α expression: a novel mechanism for protection of the myocardium against post-injury depression // *Shock.* 2002. Vol. 17(5). P. 345–353.
35. **Mizushima Y., Wang P., Jarrar D. et al.** Preinduction of heat shock proteins protects cardiac and hepatic functions following trauma and hemorrhage // *Am. J. Physiol.* 2000. Vol. 278. P. 352–359.
36. **Suzuki K., Sawa Y., Kagisaki K. et al.** Reduction in myocardial apoptosis associated with over expression of heat shock protein 70 // *Basic Res. Cardiol.* 2000. Vol. 95. P. 397–403.
37. **Pockley A.G., Georgiades A., Thulin T. et al.** Serum heat shock protein 70 predict the development of atherosclerosis in subjects with established hypertension // *Hypertension.* 2003. Vol. 42. P. 235–238.
38. **Milner C.M., Champell R.D.** Structure and expression of the three MHC-linked HSP70 genes // *Immunogenetics.* 1990. Vol. 32. P. 242–251.
39. **Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И.** Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и TNF- α европеоидного населения Западной Сибири // *Иммунология.* 2010. № 4. С. 176–181.
40. **Pociot F., Ronningen K.S., Nerup J.** Polymorphic analysis of the human MHC-linked heat shock protein 70 (*HSP-70-2*) and *HSP-70-Hom* genes in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) // *Scand. J. Immunol.* 1993. Vol. 38. P. 491–495.
41. **Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. и др.** Анализ полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ-2 и 9 у пациентов с ишемической болезнью сердца // *Терапевт. архив.* 2010. № 1. С. 31–35.
42. **Вейр Б.** Анализ генетических данных: Дискретные генетические признаки: Пер. с англ. М.: Мир, 1995. 400 с.
43. **Реброва О.Ю.** Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. М.: МедиаСфера, 2002. 312 с.
44. **Юнкеров В.И., Григорьев С.Г.** Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб.: ВМедА, 2002. 266 с.

45. **Bland J.M., Altman D.G.** Education and debate. The odds ratio // *BMJ*. 2000. Vol. 320. P. 1468.
46. **Гланц С.** Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с.
47. **Koch W., Kastrati A., Bottiger C. et al.** Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction // *Atherosclerosis*. 2001. Vol. 159(1). P. 137–144.
48. **Iacoviello L., Di Castelnuovo A., Gattone M. et al.** IGGI Investigators. Polymorphisms of the interleukin-1beta gene affect the risk of myocardial infarction and ischemic stroke at young age and the response of mononuclear cells to stimulation in vitro // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25(1). P. 222–227.
49. **Chen H., Wilkins L.M., Aziz N. et al.** Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context // *Hum. Mol. Genet.* 2006. Vol. 15. P. 519–529.
50. **Hulkkonen J., Laippala P., Hurme M.** A rare allele combination of the interleukin-1 gene complex is associated with high interleukin-1 beta plasma levels in healthy individuals // *Eur. Cytokine Netw.* 2000. Vol. 11. P. 251–255.
51. **Chang Y.W., Jang J.Y., Kim N.H. et al.** Interleukin-1B (*IL-1B*) polymorphisms and gastric mucosal levels of IL-1 β cytokine in Korean patients with gastric cancer // *Int. J. Cancer*. 2005. Vol. 114. P. 465–471.
52. **Altman R.** Risk factors in coronary atherosclerosis athero-inflammation: the meeting point // *Thrombosis J.* 2003. Vol. 1 (1). P. 4–14.
53. **Robbins M., Topol E.J.** Inflammation in acute coronary syndromes // *Cleveland Clinic. J. Med.* 2002. Vol. 69 (2). P. 130–142.
54. **Willerson J.T.** Systemic and local inflammation in patients with unstable atherosclerotic plaques // *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2002. Vol. 44 (6). P. 469–478.
55. **Hollegaard M.V., Bidwell J.L.** Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3 // *Genes and Immunity*. 2006. Vol. 7. P. 269–276.
56. **Wilson A.G., Symons J.A., McDowell T.L. et al.** Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 3195–3199.
57. **Skoog T., van 't Hooft F.M., Kallin B.** A common functional polymorphism (C_A substitution at position -863) in the promoter region of the tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) gene associated with reduced circulating levels of TNF- α // *Hum. Mol. Genet.* 1999. Vol. 8. P. 1443–1449.
58. **Appoloni O., Dupont E., Vandercruys M. et al.** Association Between the TNF-2 Allele and a Better Survival in Cardiogenic Shock // *CHEST*. 2004. Vol. 125. P. 2232–2237.
59. **Antonicelli R., Olivieri F., Cavallone L. et al.** Tumor necrosis factor-alpha gene -308G>A polymorphism is associated with ST-elevation myocardial infarction and with high plasma levels of biochemical ischemia markers // *Coronary Artery Disease*. 2005. Vol. 16(8). P. 489–493.
60. **Hall S.K., Perregaux D.G., Gabel C.A.** Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 beta gene with secretion of interleukin-1 beta protein // *Arthritis Rheum*. 2004. Vol. 50. P. 1976–1983.
61. **Wen A.Q., Wang J., Feng K.** Effects of haplotypes in the interleukin 1beta promoter on lipopolysaccharide-induced interleukin 1beta expression // *Shock*. 2006. Vol. 26. P. 25–30.
62. **Strandberg L., Mellström D., Ljunggren Ö. et al.** *IL-6* and *IL-1B* Polymorphisms are Associated With Fat Mass in Older Men: The MrOS Study Sweden // *Obesity*. 2008. Vol. 16. P. 710–713.
63. **Jager J., Grémeaux T., Cormont M. et al.** Interleukin-1beta-induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1 expression // *Endocrinology*. 2007. Vol. 148. P. 241–251.
64. **Suzuki K., Inoue T., Yanagisawa A. et al.** Association between Interleukin-1B C-31T Polymorphism and Obesity in Japanese // *J. Epidemiol.* 2009. Vol. 19(3). P. 131–135.
65. **Goyenechea E., Parra D., Martínez J.A.** Role of IL-6 and its -174G>C polymorphism in weight management and in the metabolic comorbidities associated with obesity // *An. Sist. Sanit. Navar.* 2005. Vol. 28(3). P. 357–366.
66. **Гончарова Н.С., Моисеева О.М., Шляхто Е.В., Алешина Г.М.** Матриксные металлопротеиназы: значение в ремоделировании миокарда при клапанных пороках сердца // *Кардиология*. 2007. № 12. С. 49–52.
67. **Blankenberg S., Rupprecht H.J., Poirier O., Bickel C. et al.** Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease // *Circulation*. 2003. Vol. 107. P. 1579–1585.
68. **Cho H.-J., Chae I.-H., Park K.-W. et al.** Functional polymorphism in the promoter region of the gelatinase B gene in relation to coronary artery disease and restenosis after percutaneous coronary intervention // *J. Hum. Gen.* 2002. Vol. 47(2). P. 88–91.
69. **Morgan A.R., Zhang B., Tapper W. et al.** Haplotypic analysis of the *MMP-9* gene in relation to coronary artery disease // *J. Mol. Med.* 2003. Vol. 81(5). P. 321–326.
70. **Galis Z.S., Sukhova G.K., Kranshoffer R. et al.** Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix degrading proteinases // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. Vol. 92. P. 402–406.
71. **Lamblin N., Bauters Ch., Hermant X. et al.** Polymorphisms in the Promoter Regions of *MMP-2*, *MMP-3*, *MMP-9* and *MMP-12* Genes as Determinants of Aneurysmal Coronary Artery Disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002. Vol. 40(1). P. 43–48.
72. **Spinale F.G.** Matrix metalloproteinase gene polymorphisms in heart failure: new pieces to the myocardial matrix puzzle // *Eur. Heart Journal*. 2004. Vol. 25. P. 631–633.
73. **Berberian P.A., Myers W., Tytell M. et al.** Immunohistochemical localization of heat shock protein-70 in normal-appearing and atherosclerotic specimens of human arteries // *Am. J. Pathology*. 1990. Vol. 136(1). P. 71–80.
74. **Giacconi R., Caruso C., Lio D. et al.** 1267 *HSP-70-2* polymorphism as a risk factor of statins on adhesion molecule expression in endothelial cells for carotid plaque rupture and cerebral ischaemia in old type 2

- diabetes-atherosclerotic patients // Mech. Ageing. Dev. 2005. Vol. 126. P. 866–873.
75. **Bolla M.K., Miller G.J., Yellon D.M. et al.** Analysis of the association of a heat shock protein70-1 gene promoter polymorphism with myocardial infarction and coronary risk traits // Dis Markers. 1998. Vol. 13. P. 227–235.
76. **He M., Guo H., Yang X. et al.** Functional SNPs in HSPA1AGene Predict Risk of Coronary Heart Disease// PLoS ONE-2009. Vol. 4(3). P. e4851.
77. **Giacconi R., Cipriano C., Muti E. et al.** Involvement of –308 *TNF- α* and 1267 *HSP-70-2* polymorphisms and zinc status in the susceptibility of coronary artery disease (CAD) in old patients //Biogerontology. 2006. Vol. 7(5-6). P. 347–356.
78. **Zhou F., Wang F., Li F. et al.** Association of *hsp70-2* and *hsp-hom* gene polymorphisms with risk of acute high-altitude illness in a Chinese population// Cell Stress Chaperones. 2005. Vol. 10(4). P. 349–356.

GENES POLYMORPHISM OF PROTEINS – REGULATORS – OF THE INFLAMMATION AT ATHEROSCLEROSIS COMPLICATED WITH DEVELOPMENT OF MYOCARDIUM INFARCT

V.I. Konenkov, A.V. Shevchenko, V.F. Prokofiev, M.I. Voevoda

Promoter polymorphism *TNFC-863A*; *TNFG-308A*; *TNFG-238A*; *IL-1 β C-511T*; *IL-1 β T-31C*; *IL4C-590T*; *IL-6G-174C*; *IL10A-1082G*; *IL10C-590A*; *MMP-2C-1306T*; *MMP-9C-1562 T*; *HSP-70-2 A-1267G* and *HSP-70-HOM C-2437T* of genes was investigated with the purpose of research association their genotypes with development of myocardium infarct (MI) at different age of means.

For genotyping we used a restriction fragment length polymorphism (RFLP) method of PCR products (RFLP-analysis) by specific primers. The amplification products were hydrolysis and restriction fragments were analysis. We are investigation 223 patients and 95 healthy men. It Is shown, that practically in each polymorphic site of the investigated genes come to light genotypes, in a various degree associated with development MI. Frequently these genetic risk factors was cooperate with classical risk factors of atherosclerosis development: smoking, age, weight index of the body, arterial pressure. Complex analysis a lot of genotypes polymorphic sites of genes *IL-1 β – IL-4 – IL-6 – IL-10 – TNF-A* are show higher parameters of relation risk (OR). Polymorphism genes research of proteins which participating in regulation of inflammation activity is independent value in creation of complex genetic risk factors of development of an atherosclerosis and its vascular complications.

Keywords: an atherosclerosis, an inflammation, myocardium infarct, cytokine genes, metallo-proteinase genes, heat shock protein genes.

Статья поступила 8 апреля 2011 г.