

Изучение взаимосвязи генетических полиморфизмов с воспалительными показателями у больных ИБС

Орлова Н.В.

д.м.н., профессор, кафедра поликлинической терапии М/ф ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, г. Москва

Чукаева И.И.

д.м.н., профессор, кафедра поликлинической терапии М/ф ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, г. Москва

Ситников В.Ф.

д.м.н., профессор, кафедра общей и медицинской генетики МБФ ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, г.Москва

Прохин А.В.

аспирант, кафедра общей и медицинской генетики МБФ ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, г.Москва

В последнее десятилетие в связи с высокой смертностью и инвалидизацией при сердечно-сосудистой патологии, все активнее изучаются факторы риска их возникновения. Наряду с хорошо изученными факторами риска — курение, дислипидемия, повышение артериального давления, ожирение, сахарный диабет, проводится изучение генетической обусловленности сердечно-сосудистых заболеваний. По этиологическим аспектам сердечно-сосудистая патология относится к мультифакторным заболеваниям с многочисленными звеньями патогенеза (1, 2). Наиболее изученным звеном атерогенеза является дислипидемия. В настоящее время появляется все больше данных о роли воспалительных процессов в патогенезе развития атеросклероза (3, 4). В то же время, генетический аспект обусловленности воспалительных процессов в развитии сердечно-сосудистых заболеваний остается не достаточно изученным. **Целью** исследования явилось изучение воспалительных реакций у больных ИБС, проведение анализа генетических полиморфизмов гена IL-10 и TNF- α и оценка их взаимосвязи с течением заболевания и поражением коронарных артерий.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 80 пациентов с верифицированным диагнозом ИБС, стабильная стенокардия напряжения. Средний возраст больных составил $55,8 \pm 5,4$ года. Диагноз ИБС устанавливали на основании типичных болевых приступов, анамнеза заболевания, данных электрокардиографии, велоэргометрии, коронарографии. Контрольную группу составили 40 практически здоровых добровольцев. Контрольная и исследуемая группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Всем пациентам проводилась коронарография в условиях рентген — операционной на ангиографической установке фирмы «Siemens» (Германия) по методике Judkins. Частота съемки составляла 12,5 кадров в секунду. Запись изображения производилась на жесткие диски установки «Hicog» фирмы «Siemens» (Германия). Анализ коронарограмм проводили в программе того же компьютера.

Цитокины сыворотки крови (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , INF- γ) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов тест-систем фирмы «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург).

Определение полиморфных фрагментов ДНК исследуемых генов проводили с помощью электрофоретического метода. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови пациентов. Измеряли концентрацию ДНК на флуориметре. При проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) были использованы 6 пар синтезированных праймеров (фирма «Синтол»), специфичных для каждого полиморфного варианта. Для каждого генетического варианта использовались свои, эмпирически подобранные условия амплификации.

Полученные данные обработаны на персональном компьютере на базе Intel Celeron в программной среде Microsoft Excel с использованием встроенного «Пакета анализа», который специально предназначен для решения статистических задач. Сравнение средних показателей производили с помощью стандартных методов вариационной статистики медико-биологического профиля.

Основной статистической обработки в данной работе был анализ χ^2 -анализ четырехпольных таблиц распределения гено- и гаплотипов в норме и контроле. В качестве порога уровня значимости был выбран стандартный уровень $P=0,05$ (5%). Критическим коэффициентом χ^2 для данного P служит значение 3,84. При превышении вычисленным значением критического уровня, гипотеза H_0 , предполагающая, что различия между эмпирическими и ожидаемыми частотами распределения (в данном случае полиморфных аллелей) являются не закономерными, а случайными, отбрасывается, в противном случае, принимается. В противных случаях использовали точный критерий Фишера.

Вычисляли отношение шансов OR, характеризующее риск заболевания, и соответствующий 95% доверительный интервал.

Результаты и их обсуждение. При анализе полученных результатов были выделены 5 групп по выраженности поражения коронарных артерий. Сосудистый индекс (СИ) определялся по количеству коронарных артерий с гемодинамически значимым стенозом (более 50% сосуда). СИ приобретал значения от 0 до 3. В первую группу вошли больные с незначительными гемодинамическими изменениями коронарных артерий, во вторую — со стенозом более 50% одной артерии, в третью — двух, в четвертую — трех и более сосудов. При анализе сопоставлялись группы с СИ равным 1- 3. В пятую группу вошли пациенты с коронарографическими признаками нестабильности атеросклеротической бляшки.

При оценке цитокиновой активности сыворотки крови больных с атеросклерозом были получены следующие результаты. Уровень TNF- α в сыворотке обследуемых пациентов был ниже определяемого уровня активности при использующихся анти-сыворотках. Значения уровней провоспалительных цитокинов (INF- γ , IL-6, IL-8) были взаимосвязаны с количеством стенозированных коронарных артерий. Наиболее низкие значения активности цитокинов определялись у пациентов без выраженного поражения сосудов. Соответственно с увеличением числа стенозированных коронарных артерий возрастали уровни провоспалительных цитокинов. Наибольшие показатели INF- γ , IL-6, IL-8 соответствовали поражению трех и более артерий. При признаках нестабильности атеросклеротических бляшек показатели провоспалительных цитокинов были максимальными.

Значения противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) имели обратную зависимость. По мере возрастания количества стенозированных коронарных артерий у пациента значения активности IL-4 и IL-10 уменьшались. Наименьшие показатели цитокинов определялись соответственно у пациентов с поражением трех и более венечных сосудов. Показатели провоспалительных цитокинов у больных с признаками нестабильности атеросклеротических бляшек были минимальными. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели цитокинов в зависимости от степени поражения коронарных артерий и признаков разрушения атеросклеротической бляшки

Данные коронарографии цитокины	без выраженного поражения сосудов	поражение 1 сосуда	поражение 2 сосудов	поражение 3 и более сосудов	нестабильная бляшка
INF- γ (пкг/мл)	13,43 \pm 0,17	34,22 \pm 2,95*	32,61 \pm 2,42*	55,77 \pm 2,26*	104,52 \pm 1,14*
IL-4 (пкг/мл)	1,8 \pm 2,13	1,32 \pm 1,63	1,44 \pm 0,27	1,37 \pm 0,74	1,66 \pm 0,12
IL-6 (пкг/мл)	2,84 \pm 1,09	7,17 \pm 2,84	6,02 \pm 2,63	12,97 \pm 3,44*	5,01 \pm 0,5
IL-8 (пкг/мл)	51,04 \pm 1,04	45,96 \pm 1,16	75,7 \pm 1,35*	147,83 \pm 1,14*	170,6 \pm 0,15*
IL-10(пкг/мл)	1,61 \pm 1,94	1,77 \pm 2,99	1,18 \pm 1,98	0,97 \pm 2,02	1,27 \pm 1,6

$p < 0,05$ в сравнении с контролем (группа без поражения сосудов)

Выявленное нами повышение провоспалительных цитокинов у больных с множественным поражением коронарных артерий, по-видимому, отражает хронические воспалительные процессы в сосудистой стенке.

Полученные нами данные о взаимосвязи выраженности уровней провоспалительных цитокинов со степенью атеросклеротического поражения коронарных сосудов подтверждают значение факторов воспаления в развитии атеросклеротического поражения коронарных артерий. Повышение уровней провоспалительных цитокинов, как инициирующих воспалительные реакции, говорит об их активном участии в повреждении эндотелия сосудов и формировании атеросклеротических бляшек (5, 6). Низкие показатели противовоспалительных цитокинов у пациентов с выраженным атеросклерозом сосудов сердца могут объяснять длительно текущее хроническое воспаление.

При оценке взаимосвязи показателя отношения шансов с поражением коронарных артерий отмечается тенденция к более высокой ассоциации с генотипом А/А гена IL-10 (OR=6,75 \pm 0,93 у больных с поражением 3 артерий) и генотипа 2/2 гена TNF- α (OR=3,17 \pm 1,3 соответственно), однако выявленные результаты не были статистически достоверными. При сопоставлении сосудистого индекса с полиморфизмами гена IL-10, выявлена ассоциация множественного поражения коронарных артерий с аллелем А. Индекс СИ был выше у больных с генотипами AA и AC гена IL-10.

Заключение: выявленные взаимосвязи поражения коронарных артерий с уровнями цитокинов и полиморфизмами воспалительных генов позволяет обсуждать не только роль значения воспаления в развитии атеросклероза, но генетическую обусловленность этих

процессов.

Список используемых источников

1. A polymorphism in the metabolic syndrome.// Metabolism. — 2000.— Vol.49. — P.1021-1024.
2. Jorde L.B., Williams R.R.//Relation between family history of coronaryartery disease and coronary risk variables. //Am. J. Cardiol. — 1988. — Vol.62. — P.708-713.
3. Назаров П.Г., Реактанты острой фазы воспаления, 2001
4. Орлова Н.В. Значение острофазовых белков и иммунологических показателей для диагностики и прогноза инфаркта миокарда.//Дисс. к.м.н. 1989.
5. Sarraf P, Frederich R.C., Tumer E.M. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia.//J. Exp. Med. — 1997. — Vol. 185. — P.171-175.
6. Wilson A.G., Symons J.A., Mc.Dowell T.L. et al. Effects of a polymorphism in the human tumour necrosis factor a promoter on transcriptional activation.// Proc. Natl. Acad. Sci USA — 1997. — Vol. 94. — P.3195-3199.