

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИСПЫТАНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

УДК 616.06-12; 575.164; 57.049

М.В. Хуторная, А.В. Понасенко, Ю.В. Байракова, А.С. Головкин

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *IL1B* И ТАБАКОКУРЕНИЯ С РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний
(Кемерово)

Генотип и табакокурение определяют риски развития инфаркта миокарда (ИМ) у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Гомозиготный генотип *C* (*rs16944*) *IL1B* ассоциирован с ИМ (ОШ = 3,17 (95% ДИ = 0,92–10,89); $p < 0,01$), а гетерозиготное носительство этой аллели риски не увеличивает (ОШ = 1,36 (95% ДИ = 0,83–2,2); $p = 0,01$). Табакокурение увеличивает риск ИМ в 5 раз (ОШ = 5,16 (95% ДИ = 1,05–25,39); $p < 0,05$) у гомозигот, в 1,5 раза (ОШ = 1,46 (95% ДИ = 0,77–2,78); $p < 0,05$) – у гетерозигот 511Т/С *IL1B*. Гаплотип СТ (*rs1143634* – *rs16944*) *IL1B* связан со снижением риска ИМ у некурящих пациентов (ОШ = 0,43 (95% ДИ = 0,19–0,95); $p < 0,01$).

Ключевые слова: интерлейкин-1, полиморфизмы, гены, табакокурение, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, факторы риска, генетическая предрасположенность

RELATIONSHIP BETWEEN *IL1B* GENE POLYMORPHISM AND SMOKING WITH THE RISK OF MYOCARDIAL INFARCTION

M.V. Khutornaya, A.V. Ponasenko, Yu.V. Bayrakova, A.S. Golovkin

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo

Genotype and smoking determined risks of myocardial infarction in patients with ischemic heart disease. Homozygous genotype *C* (*rs16944*) of *IL1B* is associated with myocardial infarction (OR = 3,17 (95% CI = 0,92–10,89); $p < 0,01$) and heterozygous carrier state of this allelic gene doesn't increase risks (OR = 1,36 (95% CI = 0,83–2,2); $p = 0,01$). Smoking 5 times increases risk of myocardial infarction (OR = 5,16 (95% CI = 1,05–25,39); $p < 0,05$) in homozygotes, and 1,5 times (OR = 1,46 (95% CI = 0,77–2,78); $p < 0,05$) – in heterozygotes of 511T/C *IL1B*. Haplotype CT (*rs1143634* – *rs16944*) of *IL1B* is connected with the decrease of risk of myocardial infarction in nonsmoking patients (OR = 0,43 (95% DI = 0,19–0,95); $p < 0,01$).

Key words: interleukin 1, polymorphisms, genes, smoking, myocardial infarction, ischemic heart disease, risk factors, genetic predisposition

Инфаркт миокарда занимает ведущее место в структуре смертности кардиологических больных [6]. В то же время развитие инфаркта миокарда напрямую связано с ишемической болезнью сердца (ИБС), а многочисленные эпидемиологические, клинические и экспериментальные исследования показывают определяющее значение в возникновении ИБС и её прогрессировании различных факторов риска (ФР) и генетической предрасположенности. Одним из распространённых ФР признано табакокурение. Курение является модифицируемым фактором риска, но его вклад в патогенез ИБС настолько значителен, что некоторые авторы [4] рассматривают табакокурение в качестве этиологического фактора этого заболевания. Табакокурение является острой проблемой в современном здравоохранении, в том числе и в отношении развития осложнений ИБС в виде инфаркта миокарда. Курение табака стимулирует выброс адреналина, что может привести к катехоламиновым повреждениям сосудистой стенки и миокарда, а также вызывать спазм коронарных артерий. Установлено и прокоагулянтное

действие компонентов табака. У курильщиков в крови увеличивается содержание плазменного фибриногена, усиливается агрегация тромбоцитов, что повышает вероятность тромбоза и сосудистых катастроф [3].

Ишемическая болезнь сердца относится к заболеваниям мультифакториальной природы, и значительную роль в её патогенезе играет генетическая предрасположенность. Генетически детерминированные механизмы адаптации тесно связаны с воспалением, и в то же время воспаление признано одним из ведущих факторов развития атеросклероза ИБС [7]. Система цитокинов является одной из ключевых в сложном механизме атерогенеза и вносит существенный вклад в динамику воспалительного ответа. Цитокины не только способствуют эффективной иммунной защите против повреждающих факторов, но и определяют степень выраженности воспалительного процесса [2].

В каскаде провоспалительных цитокинов ключевое значение принадлежит интерлейкину-1 бета (interleukin 1 beta – IL-1 β), обладающему воспалительной и иммунорегуляторной активностью. Нарушение

баланса в продукции белков IL-1 β может влиять на характер заболевания и являться одним из пусковых моментов для генерации патологических изменений [1]. Известно, что структурные различия в генах, контролирующих защитные реакции организма, могут определять различный характер воспалительного ответа и выраженность специфических иммунологических реакций [5].

Цель работы: оценить значение совокупности генетической предрасположенности (полиморфизмов гена *IL1B*) и табакокурения в риске развития инфаркта миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 317 пациентов, подвергшиеся аортокоронарному шунтированию на базе Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (г. Кемерово). Группу контроля составили 300 доноров, проживающих на территории крупного промышленного Западно-Сибирского региона Российской Федерации (Кемеровская область). Группы были сопоставимы по гендерно-половым признакам (мужчин – 71 %, женщин – 29 %; средний возраст составил 47 лет). Исследование одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. Все участники были проинформированы о проведении исследования и дали письменное добровольное согласие на участие. В качестве группы референсных значений для анализа частоты встречаемости полиморфизмов гена в исследуемой популяции, приняты данные международной базы NSBI для популяции европеоидов. Материалом в исследовании послужили образцы геномной ДНК. Выделение производилось методом фенол-хлороформной экстракции с протеиназой K по модификации K. Smith et al. из цельной венозной крови [9]. Концентрация и качество выделения ДНК проверялась с использованием спектрофотометра NanoDrop-2000 (TFS, США). Идентификацию аллельных вариантов гена *IL1B* осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (англ. Polymerase Chain Reaction in Real Time (RT-PCR)) [8] с использованием коммерческого набора для пробоподготовки к ПЦР TagMan® Universal PCR MasterMix no AmpErase UNG и флуоресцентно меченных зондов по технологии Taqman (Applied Biosystems, США). Проведение RT-PCR осуществляли согласно протоколу производителя. Ис-

следовали однонуклеотидные замены в полиморфных локусах *IL1B* rs1143634 (-3953C/T) и rs16944 (-511T/C). Использовали статистические процедуры программного обеспечения SNPStats. Для оценки рисков, предоставляемых определенными аллелями или генотипами, высчитывали отношения шансов (ОШ) с 95% доверительными интервалами (95% ДИ). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение генотипов и частот встречаемости аллелей в анализируемых группах по всем исследуемым локусам было равновесным в соответствии с законом Харди – Вайнберга.

Анализ полученных данных проводили в несколько этапов. На первом этапе было проведено сравнение частот генотипов и аллелей гена *IL1B* между группами у пациентов с ИБС, контрольной группой и популяцией европеоидного происхождения (база NCBI). В результате было определено, что частота аллелей в популяции европеоидов была сопоставима ($p > 0,05$) с таковой у доноров контрольной группы, жителей Кемеровской области (табл. 1).

Сходные характеристики структуры исследуемых локусов в двух анализируемых популяциях предполагают возможность использования полученных в настоящем исследовании результатов применительно ко всем лицам европеоидного происхождения.

Одновременно сопоставление частот аллелей и генотипов *IL1B* rs1143634 (-3953C/T) и rs16944 (-511T/C) доноров контрольной группы и пациентов с ИБС показало отсутствие статистически значимых отличий ($p > 0,05$) между этими группами (табл. 2).

Такое распределение частот генотипов демонстрирует отсутствие ассоциаций изучаемых генетических маркеров с ишемической болезнью сердца. Однако установлено, что носительство минорных аллелей являлось критичным для формирования острого коронарного события в виде инфаркта миокарда. Для этого был проведён третий этап анализа. На этом этапе в обработку включены только пациенты с ИБС, поделенные на 2 группы: 1-я группа – пациенты, имеющие в анамнезе инфаркт миокарда (197 человек); 2-я группа – пациенты, не имеющие в анамнезе инфаркт миокарда (120 человек).

Было установлено, что достоверные отличия между пациентами с инфарктом миокарда и без него имеются только по маркерному региону -511T/C (рис. 1), в то время как -3953C/T не имел ассоциаций с этим ослож-

Таблица 1

Частота встречаемости аллелей локусов гена *IL1B*

Аллель	Европеоиды (n = 120)	Доноры (n = 300)	Пациенты с ИБС (n = 317)
<i>rs1143634 (-3953 C/T)</i>			
C	179 (74,58 %)	431 (71,83%)	473 (74,61 %)
T	61 (25,41 %)	169 (28,17%)	161(25,39 %)
<i>rs16944 (-511 T/C)</i>			
T	155 (64,58 %)	387 (64,50 %)	415 (65,46 %)
C	85 (35,42 %)	213 (35,50 %)	219 (34,54 %)

Таблица 2

Частота генотипов *IL1B* у доноров контрольной группы и пациентов с ишемической болезнью сердца

Группа исследования	Генотип			p
	rs1143634 (-3953 C/T)			
	C/C	C/T	T/T	
Доноры (n = 300)	154 (51,33%)	123(41,00%)	23 (7,67%)	0,89
Пациенты с ИБС (n = 317)	174 (54,89%)	125 (39,43%)	18 (5,68%)	0,55
Группа исследования	rs16944 (-511T/C)			p
	T/T	C/T	C/C	
	Доноры (n = 300)	121(40,33%)	145(48,33%)	
Пациенты с ИБС (n = 317)	133 (41,96%)	149 (47,00)	35 (11,04%)	0,54

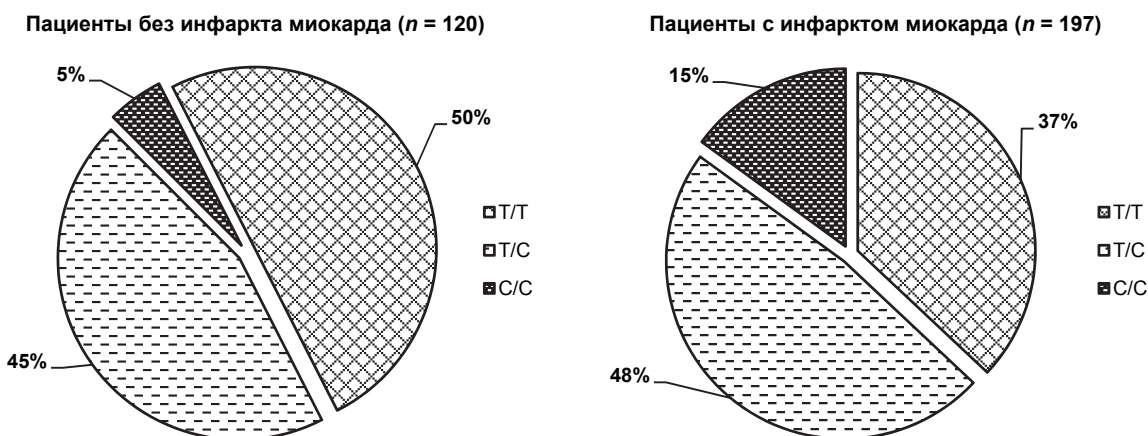


Рис. 1. Распределение генотипов rs16944 *IL1B* в двух группах пациентов с ИБС (%).

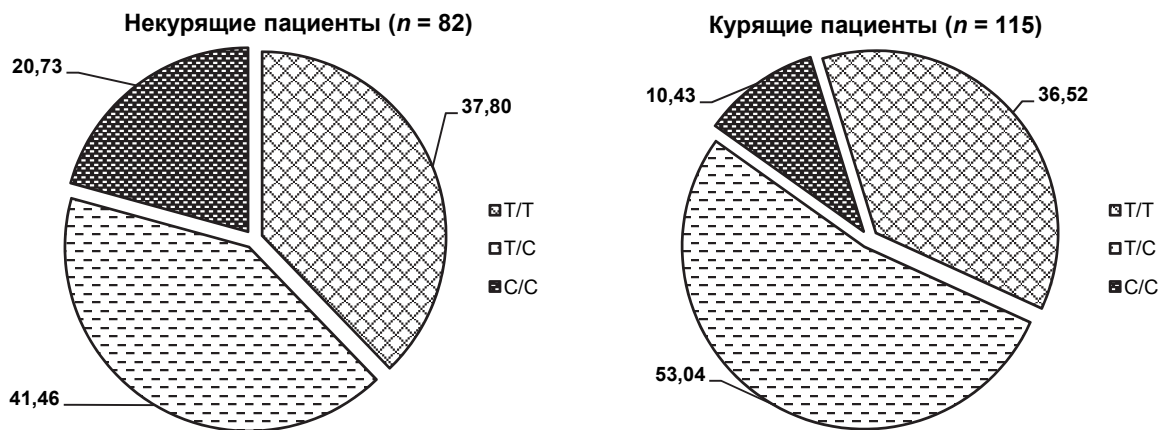


Рис. 2. Частота встречаемости генотипов rs16944 *IL1B* у пациентов с ИБС, имеющих в анамнезе инфаркт миокарда (%).

нением. Лица, являющиеся носителями гомозиготного генотипа по минорному аллелю C rs16944 *IL1B*, в 3 раза чаще (ОШ = 3,17 (95% ДИ = 0,92–10,89); $p = 0,006$) имели инфаркты, тогда как у гетерозигот риски значительно не увеличивались (ОШ = 1,36 (95% ДИ = 0,83–2,2); $p = 0,01$). Эти риски не зависели ни от возраста пациента, ни от его половой принадлежности.

Далее группу пациентов с инфарктом миокарда разделили на 2 подгруппы: курящие (115 человек) и некурящие (82 человека). Частота встречаемости минорного аллеля C -511T/C (рис. 2) у пациентов обеих групп была равной (62 % у некурящих и 63 % у курящих).

Однако у пациентов с инфарктом миокарда, не курящих табак, частота генотипа C/C полиморфизма -511T/C *IL1B* в 2 раза выше, чем у курящих пациентов (20,73 % против 10,43 %; $p < 0,05$), что предполагает активное участие воспаления в формировании острых сердечных событий у курильщиков. Данные результаты дополняют известные [3, 7] к настоящему времени сведения об участии воспаления в атерогенезе и роли табакокурения как инициирующего воспалительный ответ фактора. Одновременно определено, что при прочих равных условиях наличие такого фактора риска, как курение, дополнительно увеличивает риск

возникновения инфарктов миокарда в 5 раз (ОШ = 5,16 (95% ДИ = 1,05–25,39); $p < 0,05$) у гомозиготных носителей минорного аллеля С (генотип С/С rs16944 *IL1B*) и в 1,5 раза (ОШ = 1,46 (95% ДИ = 0,77–2,78); $p < 0,05$) – у гетерозигот (генотип Т/С rs16944 *IL1B*), что указывает на значимое влияние никотиновой зависимости на процесс формирования инфаркта миокарда как фактора, усугубляющего генетическую предрасположенность.

Независимо от того, что не было определено роли полиморфизма в локусе -3953С/Т *IL1B* ни при ишемической болезни сердца, ни для острых коронарных событий, анализ ассоциаций показал его протективное значение. Установлено, что носительство гаплотипа СТ (rs1143634 – rs16944) связано с уменьшением риска инфарктов в 2 раза у некурящих пациентов (ОШ = 0,43 (95% ДИ = 0,19–0,95); $p = 0,0011$). У курящих пациентов такой зависимости выявлено не было. Отсутствие положительных ассоциаций у курящих пациентов указывает на значение никотиновой зависимости в процессе осложнений ишемической болезни сердца воспалительного генеза.

ВЫВОДЫ

Генетическая вариабельность маркерных локусов гена *IL1B* может вносить значимый вклад в развитие инфарктов миокарда у пациентов с сердечной патологией. Совокупность носительства генотипа С/С rs16944 *IL1B* и табакокурения у пациентов с ишемической болезнью сердца связана с увеличением риска возникновения инфаркта миокарда в 5 раз, тогда как отказ от никотиновой зависимости позволяет снизить риск в среднем в 2 раза. Одновременно, носительство гаплотипа СТ (rs1143634 – rs16944 *IL1B*) связано с уменьшением риска инфарктов в 2 раза у некурящих пациентов, тогда как для курящих пациентов такой взаимосвязи не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 3–12.

Gromova A.Yu., Simbirtsev A.S. Polymorphism of human genes of IL-1 family // *Citokiny i vospalenie*. – 2005. – Vol. 4, N 2. – P. 3–12. (in Russian)

2. Козлов В.К. Сепсис: методология и алгоритм диагностики по критериям дисфункции иммунной системы // *Клиническая иммунология, аллергология, инфектология*. – 2009. – Т. 7 (26), № 6. – С. 26–29.

Kozlov V.K. Sepsis: methodology and algorithm of diagnostics by the criteria of immune system dysfunction // *Klinicheskaja immunologija, allergologija, infektologija*. – 2009. – Vol. 7 (26), N 6. – P. 26–29. (in Russian)

3. Смирнова И.П., Коновалова Т.Т. Современное состояние проблемы атеросклероза: факторы риска, роль курения в атерогенезе // *Сибирский медицинский журнал*. – 2006. – № 1. – С. 15–23.

Smirnova I.P., Konovalova T.T. Modern state of problem of atherosclerosis: risk factors, role of smoking in atherogenesis // *Sibirskij medicinskij zhurnal*. – 2006. – N 1. – P. 15–23. (in Russian)

4. Шевченко Н.М. Кардиология. – М.: Медицинское информационное агентство. – 2006. – 544 с.

Shevchenko N.M. Cardiology. – Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo. – 2006. – 544 p.

5. Araki S., Shimada Y., Kaji K. et al. Apoptosis of vascular endothelial cells by fibroblast growth factor deprivation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1990. – Vol. 168. – P. 1194–1200.

6. Dolbilkin A.Y., Abramovich S.G., Raspopin Y.A. Condition of microcirculation at patients with the arterial hypertension under the influence of the complex magneto therapy. *Health medical ecology // Science*. – 2014. – Vol. 2, N 56. – P. 79–83.

7. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352, N 16. – P. 1685–1695.

8. Heid C.A., Stevens J., Livak K.J., Williams P.M. Real time quantitative PCR // *Genome Research*. – 1996. – N 6. – P. 986–994.

9. Smith K., Kliko C., Cantor C. Puls-elektrophoresis and methods of work with the big molecules of DNA // *The Analysis of the Genome. Methods*. – Moscow: Mir, 1990. – P. 58–94.

Сведения об авторах

Хуторная Мария Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6; e-mail: masha_hut@mail.ru)

Понасенко Анастасия Валериевна – заведующая лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (e-mail: ponaav@cardio.kem.ru)

Байракова Юлия Вячеславовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории реконструктивной хирургии отдела мультифокального атеросклероза Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (e-mail: bayakovayv@gmail.com)

Головкин Алексей Сергеевич – кандидат медицинских наук, заведующий отделом экспериментальной и клинической кардиологии Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (e-mail: goloas@cardio.kem.ru)

Information about the authors

Khutornaya Maria Vladimirovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Genomic Medicine of the Department of Experimental and Clinical Cardiology of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Sosnovy blvd, 6, Kemerovo, 650002; e-mail: masha_hut@mail.ru)

Ponassenko Anastasia Valerievna – Head of the Laboratory of Genomic Medicine of the Department of Experimental and Clinical Cardiology of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (e-mail: ponaav@cardio.kem.ru)

Bayrakova Yulia Vyacheslavovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Reconstructive Surgery of the Department of Multifocal Atherosclerosis of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (e-mail: bayakovayv@gmail.com)

Golovkin Alexey Sergeevich – Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Experimental and Clinical Cardiology of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (e-mail: goloas@cardio.kem.ru)