АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ С УРОВНЯМИ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Шевченко А.В.¹, Прокофьев В.Ф.¹, Рагино Ю.И.², Чернявский А.М.³,
Воевода М.И.², Коненков В.И.¹

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск, Россия

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт терапии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск, Россия

³ ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия

Резюме. Мы предположили, что сывороточная продукция биологических маркеров, значимо отражающая степень риска развития атеросклеротического процесса и риска развития острого коронарного случая опосредована функциональным полиморфизмом комплекса генов, вовлеченных в процесс воспаления и активно влияющих на процесс взаимного регулирования продукции. Исходя из этого, нами проведен анализ частоты распределения комбинаций генотипов промоторных регионов генов цитокинов *TNF-A863C*; *TNF-A308G*; *TNF-A238G*; *IL1B C-31T*; *IL1B-C511T*; *IL4-C590T*; *IL6-C174G*; *IL10A-1082G*, *IL10-A592C*, регуляторных сайтов фактора роста сосудистого эндотелия *VEGF-A2578C*, *VEGF+T936* с сывороточным уровнем цитокинов TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, рецепторного антагониста IL-1 (IL-1ra), вчСРП, растворимого лиганда рецептора CD40 (sCD40L) у пациентов с атеросклерозом.

Нами показано, что вклад моногенотипов в ассоциированность с уровнем продукции значительно ниже, чем отношения шансов наличия определенного уровня белковой продукции, ассоциированного со сложным генотипом.

Ключевые слова: атеросклероз, полиморфизм генов цитокинов, биохимические показатели атеросклероза

Авторы:

Шевченко А.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск, Россия

Прокофьев В.Ф. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск, Россия

Рагино Ю.И. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний ФГБУ «Научно-исследовательский институт терапии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск, Россия

Чернявский А.М. — д.м.н., профессор, руководитель Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия

Воевода М.И. — д.м.н., профессор, член-корр. РАМН, директор ФГБУ «Научно-исследовательский институт терапии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск, Россия

Коненков В.И. — д.м.н., профессор, академик РАМН, директор ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск, Россия

Адрес для переписки:

Шевченко Алла Владимировна
к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук
630117, Россия, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2.
Тел.: 8 (383) 311-05-40.
E-mail: shalla64@mail.ru

Поступила 05.06.2013
Отправлена на доработку 02.08.2013
Принята к печати 22.08.2013

© Шевченко А.В. и соавт., 2014

Введение Воспаление играет ключевую роль в развитии и прогрессировании процесса атеросклероза [26]. Такие провоспалительные цитокины, как интерлейкины IL-1, IL-6, фактор некроза опухоли альфа (TNF α) рассматриваются как активные участники процесса атерогенеза. Активная роль цитокинов в атерогенезе и его клинических проявлениях подтверждается и увеличением более чем в 2,5 раза концентрации таких цитокинов, как макрофаг колонии стимулирующий фактор (M-CSF), IL-6, IL-1 β , в крови у больных с нестабильной стенокардией напряжения и острым инфарктом миокарда и повышением уровня фибриногена и высоко чувствительного С-реактивного протеина (вЧСРП), тесно коррелирующих с уровнем TNF α , IL-1 β и IL-6 [18]. Причем пик концентрации вЧСРП ассоциирован с максимальным увеличением концентрации IL-6 [2]. Сывороточные уровни TNF α и IL-6 коррелируют с тяжестью коронарного атеросклероза и связаны как с количеством пораженных атеросклеротическими бляшками сосудов, так и со степенью стеноза артерий [12, 17]. Показан повышенный уровень mRNA IL-1 β в атеросклеротических бляшках и высказано предположение, что IL-1 β может усиливать местную иммунореактивность [22]. Кроме того, полиморфизм гена IL-1 также влияет на уровни в крови вЧСРП [14, 23]. В противовес этому такие цитокины с условно противовоспалительной активностью, как IL-4 и IL-10, тормозят экспрессию тканевого фактора, вызывая гипокоагуляцию и усиление секреции активатора плазминогена. Кроме того, IL-4 и IL-10 подавляют действие IL-1 β , IL-6 и TNF α на эндотелиальные клетки и макрофаги, являющиеся основными триггерами гиперкоагуляции [28]. Другой немаловажный биологический маркер — фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A) — оценивают как основной стимулятор клеток эндотелия сосудов, играющий двоякую роль в развитии атеросклероза. С одной стороны, VEGF может выступать определенным фактором защиты, активирующим неоваскуляризацию при ишемии тканей атеросклерозированных сосудов, с другой стороны, ангиогенез, активированный VEGF может приводить к росту атеросклеротических бляшек, которые могут быть нестабильны и способствовать развитию острых коронарных событий [15, 27]. Исследования последних лет показали, что на сывороточные уровни продукции цитокинов влияет множество факторов. Уровень экспрессии контролируется индивидуальным набором

аллельных ассоциаций регуляторных регионов генов, ответственных за белковую продукцию конкретного цитокина. Не менее важен каскад плейотропных эффектов, стимулирующих или ингибирующих продукцию того или иного цитокина в воспалительном процессе.

Мы предположили, что сывороточная продукция биологических маркеров, значимо отражающая степень риска развития атеросклеротического процесса и риска развития острого коронарного случая опосредована функциональным полиморфизмом комплекса генов, вовлеченных в процесс воспаления и активно влияющих на процесс взаимного регулирования продукции. Исходя из этого, нами проведен анализ частоты распределения комбинаций генотипов промоторных регионов генов цитокинов *TNF-A863C*; *TNF-A308G*; *TNF-A238G*; *IL1B C-31T*; *IL1B-C511T*; *IL4-C590T*; *IL6-C174G*; *IL10A-1082G*, *IL10-A592C*, регуляторных сайтов фактора роста сосудистого эндотелия *VEGF-A2578C*, *VEGF+T936* с сывороточным уровнем цитокинов TNF α , IL-1 β , IL6, IL-8, рецепторного антагониста IL-1 (IL-1ra), вЧСРП, растворимого лиганда рецептора CD40 (sCD40L) у пациентов с атеросклерозом.

Материалы и методы

В исследование было включено 83 мужчины в возрасте 42-70 лет (в среднем 56,1 $\pm$ 1,2 лет) со стенозирующим коронарным атеросклерозом, верифицированным при проведении селективной коронароангиографии (КАГ) на ангиографической установке «Advantex LC/LP» (General Electric, США), без острого коронарного синдрома (ОКС) со стабильной стенокардией напряжения II-IV ФК — жителей Западной Сибири (г. Новосибирск, г. Омск, г. Тюмень, г. Барнаул, г. Томск, г. Красноярск, г. Кемерово), поступивших в Клинику на операцию коронарного шунтирования (КШ). Всеми пациентами заполнялась форма Информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения пациентов из исследования были инфаркт миокарда (ИМ) давностью менее 6 месяцев, острые воспалительные заболевания, обострение хронических воспалительных заболеваний, активные заболевания печени, почечная недостаточность, онкологические заболевания.

У 75% мужчин с коронарным атеросклерозом в анамнезе с давностью не менее 6 месяцев был перенесенный ИМ, причем у 30% из них было несколько перенесенных ИМ. У 25% мужчин в анамнезе не было ИМ, но была нестабильная стенокардия: у 10% — впервые возникшая стено-

кардия, у 15% — прогрессирующая стенокардия. Длительность ИБС у пациентов была от 1 до 40 лет, в среднем $7,1 \pm 1,3$ лет. Перед операцией КШ у всех мужчин (100%) была стабильная стенокардия напряжения: у 14% пациентов II ФК, у 70% — III ФК и у 16% мужчин — IV ФК. Таким образом, перед операцией КШ у большинства мужчин был III ФК стенокардии напряжения. Распределение пациентов в зависимости от стадии хронической сердечной недостаточности (ХСН) показало, что более чем у половины из них — у 58% определялась ПА стадия, у 30% мужчин — I стадия и у 12% — IIБ стадия ХСН. В зависимости от функционального класса ХСН распределение обследованных пациентов было следующим: I ФК определялся у 9% человек, II ФК — у 20%, III ФК — у 57% человек и IV ФК — у 14% мужчин.

При оценке наличия факторов риска ишемической болезни сердца (ИБС) у обследуемых мужчин оказалось, что у 88% из них была артериальная гипертензия (АГ). Уровень общего холестерина (ХС) крови был повышенным (< 5 ммоль/л согласно Рекомендациям ВНОК, 2012 г.) у 73% мужчин, уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛНП-ХС) выше 3 ммоль/л был у 78% обследованных. У 22% мужчин был сахарный диабет (СД) II типа. Средний индекс массы тела (ИМТ) в целом у всех обследованных пациентов был $30,2 \pm 2,5$ кг/м². Из 83 мужчин курили 43% и не курили 57%.

Биохимические методы исследования

У всех мужчин до операции однократно забирали кровь из локтевой вены утром натощак через 12 ч после приема пищи. Концентрации воспалительных цитокинов и вЧСРП в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на ИФА анализаторе Multiscan EX (ThermoFisher, Финляндия) с использованием стандартизованных наборов ELISAs: TNF α (пг/мл), IL-1 β (пг/мл), IL-1ra (пг/мл) — Biosource наборы (USA), IL-6 (пг/мл), IL-8 (пг/мл) — Cytimmune наборы (USA), sCD40L (нг/мл) — Bender MedSystems наборы (USA), вЧСРП (мг/л) — Biosource набор (USA).

Генотипирование

Исследовали однонуклеотидный полиморфизм (SNP — single nucleotide polymorphism) промоторного региона генов TNF α -863 C $\rightarrow$ A, TNF α -308 G $\rightarrow$ A, TNF α -238 G $\rightarrow$ A, IL1 β -511 T $\rightarrow$ C, IL1 β -31 C $\rightarrow$ T, IL-2 -330 T $\rightarrow$ G, IL-4 -590 C $\rightarrow$ T, IL-6 -174 G $\rightarrow$ C, IL-10 -1082 G $\rightarrow$ A и IL-10 -592 A $\rightarrow$ C, VEGF+936 C $\rightarrow$ T, VEGF -2578 C $\rightarrow$ A. Генотипирование осуществляли методом рестриктного анализа продуктов амплификации (RFLP—restriction fragment length polymorphism). Участки

промоторного региона генов амплифицировали с использованием пары специфичных праймеров [9, 13, 20, 21], затем продукты амплификации подвергали гидролизу эндонуклеазами рестрикции («СибЭнзим», Новосибирск). Электрофорез проводили в 2% агарозном геле.

Статистическая обработка

При статистическом анализе результатов исследований использовали такие показатели как частота встречаемости генов, генотипов и их комбинаций, отношение шансов (OR, odds ratio) с расчетом 95% доверительного интервала (95% Confidence Interval — 95%CI) [3, 6, 7].

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди—Вайнберга [3].

Расчет величины OR проводили по методу Вульфа—Холдейна, который допускает рассчитывать ORs по таблице 2 $\times$ 2 для случаев, когда хотя бы одна из ячеек таблицы имеет значение ноль. [1, 8].

Математическую обработку связи генетических признаков с количественными лабораторными показателями (оптимальная концентрация, ее высокие или низкие значения) проводили в соответствии с методическими и аналитическими подходами квантильного (квартильного) анализа. При данном подходе, диапазон оптимума ограничивается значениями квантилей Q₂₅ (нижний квартиль) и Q₇₅ (верхний квартиль). В качестве параметров повышенной концентрации показателей принимаются диапазоны выше Q₇₅, а сниженной — ниже Q₂₅ [4, 10].

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 [4].

Для оценки диагностической значимости генетических и генетико-лабораторных признаков использовали такие показатели как диагностический коэффициент и специфичность, расчеты которых осуществляли с использованием общепринятых методов медико-биологической статистики [5]. При OR > 1 специфичность рассчитывалась как доля отрицательных результатов генетического теста в контрольной группе, а при OR < 1 — как доля отрицательных результатов генетического теста в опытной группе [11].

Результаты

При анализе данных полученных в проведенном исследовании мы применили квантильный

ТАБЛИЦА 1. ПАРАМЕТРЫ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИССЛЕДУЕМЫХ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАРНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Показатели	TNF α (пг/мл)	IL-1 β (пг/мл)	IL-6 (пг/мл)	IL-8 (пг/мл)	IL-1ra (пг/мл)	вЧСРП (мг/л)	sCD40L (нг/мл)
Количество обследованных	82	73	83	77	57	83	81
Средние значения	3,28 $\pm$ 0,55	1,94 $\pm$ 0,30	11,32 $\pm$ 1,37	30,29 $\pm$ 5,24	897,36 $\pm$ 93,41	6,06 $\pm$ 0,49	3,26 $\pm$ 0,29
Медиана	0,91	1,32	9,00	14,41	680,00	5,66	2,44
Процентили:							
25 (нижний квартиль)	0,40	0,03	4,77	8,39	380,00	1,82	1,49
50	0,91	1,32	9,00	14,41	680,00	5,66	2,44
75 (верхний квартиль)	4,00	2,86	14,00	27,00	1110,00	8,65	4,22

подход, при котором сравниваются распределение комплекса генотипов регуляторных регионов анализируемых генов в группах с максимальными значениями концентрации лабораторных показателей TNF α , IL-1 β , IL-1ra, IL-6, IL-8, sCD40L, вЧСРП (Q₇₅ и выше), с их минимальными значениями (Q₂₅ и ниже). Статистический анализ данных по уровню воспалительных цитокинов в крови представлен в таблице 1.

Нами выявлено 23 комплексные генетические комбинации анализируемых полиморфных позиций, позитивно ассоциированные с высокой продукцией TNF α (табл. 2). В состав 13 из этих генотипов входит *TNF α -238 GG*, в 12 генотипах *IL-2 -330 TT*, в состав 9 генотипов входит *IL-10 -1082 AA* и только в одном случае гетерозиготный вариант этой полиморфной позиции, в 10 генотипах *VEGF -2578 CC*, в 15 генотипах *VEGF+936 CC*, причем выявлена ассоциированность с высоким уровнем в крови TNF α генотипа *VEGF -2578 CC* как самостоятельно, так и совместно с *VEGF+936 CC*. Присутствие в составе сложного генотипа *IL10-1082 AA* приводит к повышению отношения шансов у данного пациента на высокий уровень в крови TNF α (OR = 9,60; p = 0,0365). Максимальные значения отношения шансов наличия высокой продукции TNF α у этих пациентов достигаются при сочетании в генотипе *IL2 TT -330/IL10-1082 AA/VEGF+936CC* (OR = 21,39; p = 0,0058). Два генотипа достоверно ассоциированы с высокими значениями в крови IL-1 β . Наличие в генотипе *TNF α -308 GG/ IL1B 31TT*, является достоверным фактором наличия у пациентов высокой продукции IL-6 (OR = 10,00 p = 0,0448). Данное сочетание присутствует во всех трех комплексных генотипах, достоверно ассоциированных с высокими значениями. С регуляцией высокого уровня IL-8 достоверно ассоциированы 13 сложных генотипов. Примечательно то, что ни в одном из генотипов,

ассоциированных с высоким уровнем анализируемых белковых продуктов, за исключением именно IL-8 не встречается какой либо из генотипов *IL-6 -174*. Из 13 генотипов, достоверно ассоциированных с высокой продукцией IL-8 низкопродуцирующий генотип *IL-6 CC* входит в состав 4 генотипов, причем именно *IL-6 CC* ассоциирован с высокой продукцией IL-8 и в виде моногенотипа (OR = 10,50; p = 0,0422). Во все сложные генотипы, ассоциированные с высокой продукцией IL-8 входят полиморфные позиции *TNF α* : в десяти генотипах *TNF-238GG*, в одиннадцати генетических комбинациях *TNF-863CC*, в трех комбинациях *TNF-308GG*. Причем наличие в этих генотипах *IL-6 CC/ TNF-238GG* значительно увеличивает вероятность высокой продукции IL-8 в этой группе пациентов (OR = 23,40; p = 0,0080). Нами показано, что высокий уровень вЧСРП также ассоциирован с рядом комплексных генотипов. Максимальный уровень вероятности высокой продукции вЧСРП обеспечивается у пациентов с генотипами *IL2-330TG/ VEGF-2578CA/VEGF+936CC* и *TNF-238GG/IL2-330TT/IL10-1082AG* (OR = 10,86; p = 0,0221). Показана ассоциированность высокой продукции CD40 с рядом генотипов. Так, вероятность высокой продукции sCD40L в сыворотке крови у пациента достоверно возрастает при наличии в генотипе *IL2-330TG* (OR = 6,93; p = 0,0187). При наличии в генотипе *IL2-330TG/ IL-1B TT* эта вероятность возрастает (OR = 12,67; p = 0,0197), а наличие более сложного генотипа *IL2-330TG/ IL-1B TT/ TNF-863CC* приводит к еще более чем двукратному увеличению вероятности высокой продукции sCD40L (OR = 27,88; p = 0,0033).

Комплексные генетические комбинации, достоверно ассоциированные с низким уровнем белкового продукта TNF α , IL-1 β , IL-1ra, IL-8, sCD40L и вЧСРП представлены в таблице 3.

ТАБЛИЦА 2. ГЕНОТИПЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ (ОТСОРТИРОВАННЫЕ ВНУТРИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПО ВЕЛИЧИНЕ OR)

Показатель	Полиморфизм	Генотип	Высокие	Низкие	OR	OR's 95%CI	P (tmF ₂)	Sp
TNF α	IL2-330:IL10-1082:VEGF-936	TT-AA-CC	28,57	0,00	21,39	1,13-406,56	0,0058	100,0
TNF α	TNF-238:IL2-330:IL10-1082:VEGF-936	GG-TT-AA-CC	28,57	0,00	21,39	1,13-406,56	0,0058	100,0
TNF α	TNF-863:IL2-330:IL10-1082:VEGF-936	CC-TT-AA-CC	28,57	0,00	21,39	1,13-406,56	0,0058	100,0
TNF α	TNF-863:TNF-238:IL2-330:IL10-1082:VEGF-936	CC-GG-TT-AA-CC	28,57	0,00	21,39	1,13-406,56	0,0058	100,0
TNF α	IL10-1082:VEGF2578	AA-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	IL1B-31:IL4-590:IL10-1082	TT-CC-AA	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	IL2-330:VEGF2578:VEGF-936	TT-CC-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-238:IL10-1082:VEGF2578	GG-AA-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-238:IL1B-31:IL10-1082:IL10-592	GG-TC-AG-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-238:IL1B-31:IL10-592:VEGF-936	GG-TC-CC-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-238:IL2-330:IL10-1082	GG-TT-AA	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-238:IL2-330:VEGF2578:VEGF-936	GG-TT-CC-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-308:TNF-238:VEGF2578:VEGF-936	GG-GG-CC-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-308:VEGF2578:VEGF-936	GG-CC-CC	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-863:TNF-238:IL2-330:IL10-1082	CC-GG-TT-AA	28,57	4,00	9,60	1,05-87,79	0,0365	96,00
TNF α	TNF-238:VEGF2578:VEGF-936	GG-CC-CC	42,86	8,00	8,63	1,60-46,45	0,0128	92,00
TNF α	VEGF2578:VEGF-936	CC-CC	42,86	8,00	8,63	1,60-46,45	0,0128	92,00
TNF α	IL2-330:IL4-590:VEGF-936	TT-CC-CC	38,10	8,00	7,08	1,30-38,44	0,0282	92,00
TNF α	TNF-238:IL2-330:IL4-590:VEGF-936	GG-TT-CC-CC	38,10	8,00	7,08	1,30-38,44	0,0282	92,00
TNF α	TNF-238:VEGF2578	GG-CC	47,62	16,00	4,77	1,21-18,78	0,0274	84,00
TNF α	VEGF2578	CC	47,62	16,00	4,77	1,21-18,78	0,0274	84,00
TNF α	IL2-330:VEGF-936	TT-CC	52,38	20,00	4,40	1,20-16,17	0,0312	80,00
TNF α	TNF-238:IL2-330:VEGF-936	GG-TT-CC	52,38	20,00	4,40	1,20-16,17	0,0312	80,00
IL-1 β	TNF-308:IL2-330	GG-TT	44,44	10,53	6,80	1,20-38,56	0,0293	89,47
IL-1 β	TNF-308:IL4-590	GG-CC	61,11	26,32	4,40	1,09-17,72	0,0489	73,68
IL-6	TNF-308:IL1B-31:VEGF-936	GG-TT-CC	33,33	4,76	10,00	1,10-90,60	0,0448	95,24
IL-6	TNF-308:IL1B-31:VEGF2578	GG-TT-CA	33,33	4,76	10,00	1,10-90,60	0,0448	95,24
IL-6	TNF-308:IL1B-31:VEGF2578:VEGF-936	GG-TT-CA-CC	33,33	4,76	10,00	1,10-90,60	0,0448	95,24
sCD40L	TNF-863:IL1B-31:IL2-330	CC-TT-TG	40,00	0,00	27,88	1,48-526,14	0,0033	100,00

Таблица 2 (окончание)

Показатель	Полиморфизм	Генотип	Высокие	Низкие	OR	OR's 95%CI	P (tnF ₂)	Sp
sCD40L	IL1B-31:IL2-330	TT-TG	40,00	5,00	12,67	1,40-114,42	0,0197	95,00
sCD40L	TNF-863:TNF-238:IL2-330	CC-GG-TG	40,00	5,00	12,67	1,40-114,42	0,0197	95,00
sCD40L	TNF-863:TNF-308:IL2-330	CC-GG-TG	40,00	5,00	12,67	1,40-114,42	0,0197	95,00
sCD40L	TNF-863:IL2-330	CC-TG	55,00	10,00	11,00	2,00-60,57	0,0057	90,00
sCD40L	TNF-863:IL2-330:VEGF-936	CC-TG-CC	35,00	5,00	10,23	1,12-93,35	0,0436	95,00
sCD40L	TNF-863:TNF-238:VEGF2578:VEGF-936	CC-GG-CA-CC	35,00	5,00	10,23	1,12-93,35	0,0436	95,00
sCD40L	IL2-330	TG	55,00	15,00	6,93	1,53-31,38	0,0187	85,00
в4CRП	IL2-330:VEGF2578:VEGF-936	TG-CA-CC	36,36	5,00	10,86	1,21-97,06	0,0221	95,00
в4CRП	TNF-238:IL2-330:IL10-1082	GG-TT-AG	36,36	5,00	10,86	1,21-97,06	0,0221	95,00
в4CRП	TNF-308:TNF-238:IL10-1082:VEGF-936	GG-GG-AG-CC	31,82	4,76	9,33	1,03-84,21	0,0459	95,24
в4CRП	TNF-863:TNF-238:IL1B-31:VEGF2578:VEGF-936	CC-GG-TT-CA-CC	31,82	4,76	9,33	1,03-84,21	0,0459	95,24
в4CRП	TNF-863:TNF-238:VEGF2578:VEGF-936	CC-GG-CA-CC	45,45	14,29	5,00	1,14-22,02	0,0452	85,71
IL-8	TNF-238:IL6-174	GG-CC	36,84	0,00	23,40	1,23-446,87	0,0080	100,00
IL-8	TNF-863:TNF-238:IL6-174	CC-GG-CC	36,84	0,00	23,40	1,23-446,87	0,0080	100,00
IL-8	TNF-863:IL1B-31:IL4-590	CC-TT-CC	42,11	5,26	13,09	1,44-119,34	0,0188	94,74
IL-8	TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL4-590	CC-GG-TT-CC	42,11	5,26	13,09	1,44-119,34	0,0188	94,74
IL-8	IL6-174	CC	36,84	5,26	10,50	1,14-96,58	0,0422	94,74
IL-8	TNF-863:IL6-174	CC-CC	36,84	5,26	10,50	1,14-96,58	0,0422	94,74
IL-8	TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL10-592	CC-GG-TT-CC	36,84	5,26	10,50	1,14-96,58	0,0422	94,74
IL-8	TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL1B-31	CC-GG-GG-TT	36,84	5,26	10,50	1,14-96,58	0,0422	94,74
IL-8	TNF-863:TNF-308:TNF-238:VEGF-936	CC-GG-GG-CC	36,84	5,26	10,50	1,14-96,58	0,0422	94,74
IL-8	TNF-863:TNF-238:IL1B-31	CC-GG-TT	63,16	21,05	6,43	1,52-27,24	0,0201	78,95
IL-8	TNF-863:TNF-238	CC-GG	84,21	47,37	5,93	1,29-27,28	0,0382	52,63
IL-8	TNF-863:TNF-238:IL4-590	CC-GG-CC	52,63	15,79	5,93	1,29-27,28	0,0382	84,21
IL-8	TNF-863:TNF-308:TNF-238	CC-GG-GG	52,63	15,79	5,93	1,29-27,28	0,0382	84,21

Примечание. Здесь и в таблице 3: в столбцах «высокие» и «низкие» приведена частота (в %) встречаемости генотипа среди пациентов, значения лабораторного показателя у которых соответствуют высоким или низким уровням (диапазоны верхнего или нижнего квартилей); OR – отношение шансов; OR's 95%CI – 95%-й доверительный интервал для OR; P (tnF₂) – значения P разности частот встречаемости комбинаций генотипов в группах сравнения по двустороннему варианту точного метода Фишера; Sp – специфичность в %.

ТАБЛИЦА 3. ГЕНОТИПЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С НИЗКИМ УРОВНЕМ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ (ОТСОРТИРОВАННЫЕ ВНУТРИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПО ВЕЛИЧИНЕ OR)

Показатель	Полиморфизм	Генотип	Высокие	Низкие	OR	OR's 95%CI	P (tmF ₂)	Sp
TNF α	IL10-1082	GG	4,76	32,00	0,11	0,01-0,94	0,0274	95,24
TNF α	IL10-1082:IL10-592	GG-CC	4,76	32,00	0,11	0,01-0,94	0,0274	95,24
TNF α	TNF-308:IL2-330:IL10-592	GG-TG-CC	4,76	32,00	0,11	0,01-0,94	0,0274	95,24
TNF α	TNF-863:IL10-1082	CC-GG	4,76	32,00	0,11	0,01-0,94	0,0274	95,24
TNF α	TNF-863:IL10-1082:IL10-592	CC-GG-CC	4,76	32,00	0,11	0,01-0,94	0,0274	95,24
TNF α	TNF-863:IL10-592:VEGF-936	CC-CC-CT	4,76	32,00	0,11	0,01-0,94	0,0274	95,24
TNF α	TNF-863:TNF-238:IL2-330	CC-GG-TG	4,76	32,00	0,11	0,01-0,94	0,0274	95,24
TNF α	IL2-330:VEGF2578	TG-CA	9,52	36,00	0,19	0,04-0,99	0,0449	90,48
TNF α	TNF-308:IL2-330	GG-TG	9,52	36,00	0,19	0,04-0,99	0,0449	90,48
IL-1 β	TNF-863:TNF-238:IL4-590:VEGF-936	CC-GG-CT-CC	5,56	36,84	0,10	0,01-0,93	0,0422	94,44
sCD40L	IL10-1082:IL10-592:VEGF2578	AA-CA-CC	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	IL10-1082:VEGF2578	AA-CC	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	IL10-592:VEGF2578	CA-CC	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	IL2-330:IL10-1082:IL10-592	TT-AA-CA	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL10-1082:IL10-592:VEGF2578	GG-AA-CA-CC	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL10-1082:VEGF2578	GG-AA-CC	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL10-592:VEGF2578	GG-CA-CC	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL2-330:IL10-1082:IL10-592	GG-TT-AA-CA	0,00	35,00	0,04	0,00-0,83	0,0083	100,0
sCD40L	IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF2578	GC-AA-CA-CC	0,00	31,58	0,05	0,00-0,98	0,0083	100,0
sCD40L	IL6-174:IL10-1082:VEGF2578	GC-AA-CC	0,00	31,58	0,05	0,00-0,98	0,0083	100,0
sCD40L	IL6-174:IL10-592:VEGF2578	GC-CA-CC	0,00	31,58	0,05	0,00-0,98	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF2578	GG-GC-AA-CA-CC	0,00	31,58	0,05	0,00-0,98	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL6-174:IL10-1082:VEGF2578	GG-GC-AA-CC	0,00	31,58	0,05	0,00-0,98	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578	GG-GC-CA-CC	0,00	31,58	0,05	0,00-0,98	0,0083	100,0
sCD40L	TNF-238:IL2-330:IL10-1082	GG-TT-AA	5,00	40,00	0,08	0,01-0,71	0,0197	95,00
sCD40L	TNF-238:IL1B-31:IL10-1082:IL10-592	GG-TT-AA-CA	5,00	35,00	0,10	0,01-0,89	0,0436	95,00
sCD40L	TNF-238:IL10-1082:IL10-592	GG-AA-CA	10,00	45,00	0,14	0,02-0,75	0,0310	90,00
В4СРП	IL2-330:IL10-1082:IL10-592	TT-AA-CA	0,00	30,00	0,05	0,00-0,95	0,0074	100,0
В4СРП	IL10-1082:IL10-592	AA-CA	9,09	38,10	0,16	0,03-0,89	0,0339	90,91
IL-1ra	TNF-863:IL4-590:IL10-592	CC-CC-CC	0,00	50,00	0,03	0,00-0,69	0,0058	100,0

Таблица 3 (окончание)

Показатель	Полиморфизм	Генотип	Высокие	Низкие	OR	OR's 95%CI	P (tmF ₂)	Sp
IL-1ra	TNF-863:TNF-238:IL2-330:IL10-592	CC-GG-TG-CC	0,00	42,86	0,05	0,00-0,90	0,0159	100,0
IL-1ra	TNF-863:TNF-238:IL4-590:IL10-592	CC-GG-CC-CC	0,00	42,86	0,05	0,00-0,90	0,0159	100,0
IL-1ra	TNF-863:TNF-308:IL4-590:IL10-592	CC-GG-CC-CC	0,00	42,86	0,05	0,00-0,90	0,0159	100,0
IL-1ra	TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-592	CC-GG-GG-CC	0,00	42,86	0,05	0,00-0,90	0,0159	100,0
IL-1ra	TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL4-590:IL10-592	CC-GG-GG-CC-CC	0,00	42,86	0,05	0,00-0,90	0,0159	100,0
IL-1ra	TNF-863:TNF-238:IL10-592	CC-GG-CC	7,14	57,14	0,06	0,01-0,57	0,0128	92,86
IL-1ra	TNF-863:IL2-330:IL10-592	CC-TG-CC	7,14	50,00	0,08	0,01-0,76	0,0329	92,86
IL-1ra	TNF-863:IL10-592	CC-CC	14,29	64,29	0,09	0,01-0,59	0,0183	85,71
IL-1ra	TNF-863:TNF-308:TNF-238	CC-GG-GG	14,29	57,14	0,13	0,02-0,78	0,0461	85,71
IL-8	TNF-863:IL6-174:VEGF2578	CC-GC-CA	0,00	36,84	0,04	0,00-0,82	0,0080	100,0
IL-8	IL6-174:VEGF2578	GC-CA	5,26	47,37	0,06	0,01-0,56	0,0078	94,74
IL-8	TNF-863:IL6-174	CC-GC	10,53	52,63	0,11	0,02-0,59	0,0128	89,47
IL-8	IL6-174	GC	26,32	63,16	0,21	0,05-0,83	0,0489	73,68
IL-8	VEGF2578	CA	36,84	73,68	0,21	0,05-0,83	0,0489	63,16

Девять комплексных генетических комбинаций анализируемых нами полиморфных позиций позитивно ассоциированы с низкой продукцией TNF α . В составе 4 генотипов выявляется *IL-2-330 TG*, в 4 генотипах *IL-10-592 CC*, в 4 генотипах *IL-10-1082 GG*, в 1 генотипе *VEGF-2578 CA* и в 1 генотипе *VEGF+936 CT*. Связь низкой продукции IL-1 β показана только с генотипом *TNF α -863CC/TNF α -238 GG/IL4-590CT/VEGF+936 CC*. Напротив, низкая продукция IL-1ra ассоциирована с 10 генотипами, в девяти из которых присутствует *IL10-592 CC* генотип. Из пяти достоверно ассоциированных с низкой продукцией IL-8 два являются моногенотипами *VEGF-2578 CA* (OR = 0,21; p = 0,0489), *IL6-174 GC* (OR = 0,21; p = 0,0489), три генотипа содержат *IL6-174 GC*. Высокая вероятность низкой продукции у пациентов IL-8, в чьих генотипах выявляется носительство и *VEGF-2578 CA* и *IL6-174 GC*: *VEGF-2578 CA / IL6-174 GC* (OR = 0,06; p = 0,0078) и *TNF-863 CC/VEGF-2578 CA /IL6-174 GC* (OR = 0,04; p = 0,0080). Оба генотипа, ассоциированных с низкой продукцией вЧСПП содержат две полиморфные позиции гена *IL10*, причем данная ассоциированность усиливается практически в три раза при наличии *IL2-330TT*: *IL10-1082AA/IL10-592CA* и *IL2-330TT/IL10-1082AA/IL10-592CA* (OR = 0,16; p = 0,0339 и OR = 0,05; p = 0,0074 соответственно). В составе каждой из 17 генетических комбинаций, достоверно ассоциированных с низкой продукцией sCD40L содержатся *IL-10-1082 AA*, либо *IL-10-592 AC* генотипы.

Обсуждение

В настоящее время существует множество данных относительно ассоциированности отдельных генотипов с развитием атеросклероза и не меньшее данных относительно связи продукции цитокинов, вЧСПП и ряда других лабораторных показателей с риском развития, тяжестью течения и вероятностью острого коронарного случая у этих пациентов. Меньше работ, касающихся связи SNP цитокинов с уровнем транскрипции или сывороточной продукции при заболеваниях, причем, зачастую, информация противоречивая. Например, в одной из первых подобных работ авторами сообщается, что *C* аллель *GIL6-174 C* связан с низкой транскрипционной активностью в LPS- или IL-1-стимулированных HeLA клетках и с сниженными плазменными уровнями IL-6 [16]. В более поздних исследованиях показано, что *C* вариант связан с высокой промоторной активностью гена [19], в то же время, в проведенном недавно мета-анализе пока-

зано отсутствие ассоциации между этим SNP и сывороточными уровнями IL-6 [24]. На здоровой группе из 200 мужчин было показано отсутствие связи между отдельными полиморфизмами (TLR-4299, TLR-4399, TNF-308, IL-18-137, IL-18-607, IFN-g+874, IL-6-174, IL-10-592 и IL-10-1082), продукты которых принимают участие в воспалительном ответе и изменениях в плазменных уровнях TNF α , IL-6 и IL-10. IL-18, вызванных внутривенным введением низкой дозой *Escherichia coli* эндотоксина [29]. Нами, тем не менее, выявлен ряд моногенотипов, ассоциированных с уровнем лабораторных показателей в группе мужчин с атеросклерозом. Показана ассоциированность высокой продукции TNF α с *VEGF-2578 CC* генотипом, sCD40L с *IL2-330 TG* генотипом, IL-8 с *IL6-174CC* генотипом, а низкой продукции TNF α с *IL10-1082GG* генотипом, IL-8 с *IL6-174GC* и *VEGF-2578 CA* генотипами. Эксперименты *in vitro* показали, что экспрессия *IL-10* в *LPS*-стимулированных моноцитах связана с TNF α по типу отрицательной обратной связи и свидетельствует о том, что *IL-10* вызывает по принципу отрицательной обратной связи замедление продукции воспалительных цитокинов. Заслуживает внимания то, что *IL-10* оказывает эти противовоспалительные

эффекты при локальной продукции в сосудистой стенке [30]. В нашем исследовании именно высокоэкспрессирующий генотип *IL10-1082GG* [25] ассоциирован с низкой продукцией TNF α , что может быть элементом процесса обратного регулирования, упомянутого выше. Однако слабые ассоциации между SNP полиморфизмом помоторных регионов цитокинов и сывороточными или плазменными уровнями белковой продукции могут отражать вклад других факторов, таких, как общее состояние организма, образ жизни. Кроме того, нельзя не учитывать и влияние каскадных реакций на уровень сывороточной продукции. Нами показано, что вклад моногенотипов в ассоциированность с уровнем продукции значительно ниже, чем отношения шансов наличия определенного уровня белковой продукции, ассоциированного со сложным генотипом. Полученные данные позволяют сделать выводы о сложных генных сетях как основе регуляции цитокиновой активности. При этом можно предположить, что вовлеченная в воспалительный ответ единая генетическая сеть регулирует уровни каскада различных активных молекул, участвующих в процессе, тем самым, создавая определенный уровень и направленность иммунного ответа.

Список литературы / References

1. Бабич П.Н., Чубенко А.В., Лапач С.Н. Применение современных статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение третье. Отношение шансов: понятия, вычисление и интерпретация // Украинский медицинский журнал. 2005. Т. 46, № 2. С. 113-119. [Babich P.N., Chubenko A.V., Lapach S.N. *Primenenie sovremennykh statisticheskikh metodov v praktike klinicheskikh issledovaniy. Soobshchenie tret'e. Otnoshenie shansov: ponyatiya, vychislenie i interpretatsiya* [Application of modern statistical methods in practice of clinical researches. The third message. Odds ratios: concepts, calculation and interpretation]. *Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal = Ukrainian Medical Journal*, 2005, Vol. 46, no. 2, pp. 113-119.]
2. Богова О.Т., Чукаева И.И. Инфаркт миокарда. Воспаление и прогноз // Российский кардиологический журнал. 2003, Т. 4. С. 18-23. [Bogova O.T., Chukaeva I.I. *Infarkt miokarda. Vospalenie i prognoz* [Myocardium infarct. Inflammation and prognosis]. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Cardiological Journal*, 2003, Vol. 4, pp. 18-23.]
3. Вейр Б. Анализ генетических данных: Дискретные генетические признаки. Пер. с англ. М.: Мир, 1995. 400 с. [Veyr B. *Analiz geneticheskikh dannykh: Diskretnye geneticheskie priznaki*. Per. s angl. [The analysis of the genetic data: Discrete genetic attributes. Engl. Transl]. Moscow: World, 1995. 400 p.]
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. М.: Практика, 1998, 459 с. [Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika: Per. s angl.* [Medical and biologic statistics. Engl. Transl]. Moscow: Practice, 1998. 459 p.]
5. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина, 1983. 296 с. [Gubler E.V. *Vychislitel'nye metody analiza i raspoznavaniya patologicheskikh protsessov* [Computing methods of the analysis and recognition of pathological processes]. Leningrad: Medicine, 1983. 296 p.]

6. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с. [Zhivotovskiy L.A. *Populyatsionnaya biometriya* [Biometry of population]. Moscow: Science, 1991. 271 p.]
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ. Statistica. М.: Медиасфера, 2002. 312 с. [Rebrova O.Yu. *Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm. Statistica* [Statistical analysis of the medical data. Application of a package of applied programs Statistica]. Moscow: Mediasfera, 2002, 312 p.]
8. Певницкий Л.А. Статистическая оценка ассоциаций HLA-антигенов с заболеваниями // Вестник АМН СССР. 1998. № 7. С. 48-51. [Pevnitskiy L.A. *Statisticheskaya otsenka assotsiatsiy HLA-antigenov s zabolevaniyami* [Statistical assessment of HLA-antigen associations with diseases]. *Vestnik AMN SSSR = Bulletin of the Academy of Medical Sciences of the USSR*, 1998, no. 7, pp. 48-51.]
9. 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. Т. 4. С. 176-181. [Shevchenko A.V., Golovanova O.V., Konenkov V.I. *Osobennosti polimorfizma promotornykh regionov genov tsitokinov IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 i TNF α evropeoidnogo naseleniya Zapadnoy Sibiri* [Feature of promoter polymorphism of cytokines genes IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 and TNF α at Western Siberia Caucasoid]. *Immunologiya = Immunology*, 2010, Vol. 4, pp. 176-181.]
10. Шорников Б.С. Классификация и диагностика в биологическом эксперименте. Проблема оценки и классификации интерьерных признаков человека М.: Наука, 1979. 142 с. [Shornikov B.S. *Klassifikatsiya i diagnostika v biologicheskoy eksperimente. Problema otsenki i klassifikatsii inter'ernykh priznakov cheloveka* [Classification and diagnostics in biological experiment. A problem of an estimation and classification humans interior attributes]. Moscow: Science, 1979. 142 p.]
11. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб., ВМедА, 2002. 266 с. [Yunkero V.I., Grigor'ev S.G. *Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsinskikh issledovaniy* [Mathematican-statistical data processing of medical researches]. St. Petersburg: BMedA, 2002. 266 p.]
12. Armstrong E.J., Morrow D.A., Sabatine M.S. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes part i: introduction and cytokines. *Circulation.*, 2006, Vol. 113, pp. e72-e75.
13. Banyasz I., Szabo S., Bokodi G., Vannay A., Vasarhelyi B., Szabo A., Tulassay T., Jr J.R. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe preeclampsia. *Mol. Hum. Reprod.*, 2006, Vol. 12, pp. 233-236.
14. Berger P., McConnell J.P., Nunn M., Kornman K.S., Sorrell J., Stephenson K., Duff G.W. C-reactive protein levels are influenced by common IL-1 gene variations. *Cytokine*, 2002, Vol. 17, pp. 171-174.
15. Ferrara N., Gerber H.P., Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.*, 2003, Vol. 9, pp. 669-676.
16. Fishman D., Faulds G., Jeffery R., Mohamed-Ali V., Yudkin J. S., Humphries S., Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J. Clin. Invest.*, 1998, Vol. 102, pp. 1369-1376.
17. Gotsman I., Stabholz A., Planer D., Pugatsch T., Lapidus L., Novikov Y., Masrawa S., Soskolne A., Lotan C. Serum cytokine tumor necrosis factor- α and interleukin-6 associated with the severity of coronary artery disease: indicators of an active inflammatory burden? *IMAJ*, 2008, Vol. 10, pp. 494-498.
18. Hazelzet J.A., van der Voort E., J. Lindemans, Heerdt P.G., Neijens H.J. Relation between cytokines and routine laboratory data in children with septic shock and purpura. *Intensive Care Med.*, 1994, Vol. 20, pp. 371-374.
19. Heesen M., Bloemeke B., Heussen N., Kunz D. Can the interleukin-6 response to endotoxin be predicted? Studies of the influence of a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene, gender, the density of the endotoxin receptor CD14, and inflammatory cytokines. *Crit Care Med.*, 2002, Vol. 30, pp. 664-669.
20. John S., Turner D., Donn R., Sinnott P., Worthington J., Ollier W.E.R., Hutchinson I.V., Hajeer, A.H., Two novel biallelic polymorphisms in the IL-2 gene. *Eur. J. Immunogenet.*, 1998, Vol. 25, pp. 419-420.
21. Kim J.K., Oh D., Kwak S.Y., Han J. H., Chung Y. S., Kim N.K. Genetic polymorphism of vascular endothelial growth factor (VEGF C936T) in the korean population. *Korean J. Biol. Sci.*, 2003, Vol. 7, pp. 261-264.

22. Lai J., Zhou D., Xia S., Shang Y., Zhu J., Pan J., Hua B., Zhu Y., Cui L. Association of interleukin-1 gene cluster polymorphisms with ischemic stroke in a Chinese population. *Neurol. India*, 2006, Vol. 54, pp. 366-369.
23. Latkovskis G., Liciis N., Kalnins U. C-reactive protein levels and common polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster and interleukin-6 gene in patients with coronary heart disease. *Eur. J. Immunogenet.*, 2004, Vol. 31, pp. 207-213.
24. Qi L., van Dam R.M., Meigs J.B., Manson J.E., Hunter D., Hu F.B. Genetic variation in IL6 gene and type 2 diabetes: tagging-SNP haplotype analysis in large-scale case-control study and meta-analysis. *Hum. Mol. Genet.*, 2006, Vol. 15, pp. 1914-1920.
25. Rees L., Wood N., Gillespie K., Lai K., Gaston K., Mathieson P. The interleukin-10-1082 G/A polymorphism: allele frequency in different populations and functional significance. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2002, Vol. 59, pp. 560-569.
26. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 1999, Vol. 340, pp. 115-126.
27. Roy H., Bhardwaj S., Yla-Herttuala S. Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett.*, 2006, Vol. 580, pp. 2879-2887.
28. Smith B.M., Irving S., Sheldon J., Cole D., Kaski J.C. Serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable. *Circulation*, 2001, Vol. 104, p. 746.
29. Taudorf S., Krabbe K.S., Berg R.M.G., Møller K., Pedersen B.K., Bruunsgaard H. Common studied polymorphisms do not affect plasma cytokine levels upon endotoxin exposure in humans. *Clin. Exp. Imm.*, 2008, Vol. 152, pp. 147-152.
30. Tedgui A., Mallat Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. *Review Circ. Res.*, 2001, Vol. 88, pp. 877-887.

Meditinskaya Immunologiya / Medical Immunology
2014, Vol. 16, No 4, pp. 333-344

ORIGINAL ARTICLES

INFLAMMATORY CYTOKINES GENES POLYMORPHISM ASSOCIATION WITH SERUM LEVELS OF BIOCHEMICAL MARKERS AT THE CORONARY ATHEROSCLEROSIS

Shevchenko A.V.^a, Prokofyev V.F.^a, Ragino Yu.I.^b, Chernjavski A.M.^c, Voevoda M.I.^b, Konenkov V.I.^a

^a Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russian Federation

^b Research Institute of Therapy, Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russian Federation

^c E.N. Meshalkin State Research Institute of Circulation Pathology, Russian Ministry of Health Care, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. We have assumed, that serum production of biological markers that are significantly reflecting a risk degree for atherosclerotic process and acute coronary events may be modified by functional polymorphisms of a functional complex of genes that may be involved into inflammatory process and influence mutual regulation of their production. Therefore, we have assayed a number of appropriate gene polymorphisms and assessed frequency distribution for several promoter genotypes and their combinations, e.c., *TNF-A863C*; *TNF-A308G*; *TNF-A238G*; *IL1BC-31T*; *IL1B-C511T*; *IL4-C590T*; *IL6-C174G*; *IL10A-1082G*, *IL10-A592C* genes, regulatory sites of *VEGF-A2578C*, *VEGF+T936* gene variants. We have also measured serum levels of $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), C-reactive protein, soluble CD40 ligand receptor (sCD40L) in the patients with atherosclerosis. In general, it has been shown that contribution of single cytokine genotypes to the association with level of their production is much lower, than odds ratio of changed protein production associated with a compound genotype. (*Med. Immunol.*, 2014, vol. 16, N 4, pp 333-344)

Keywords: atherosclerosis, cytokine genes, polymorphism, biochemical parameters

Authors:

Shevchenko A.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russian Federation

Prokofyev V.F., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russian Federation

Ragino Yu.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Studies of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy, Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russian Federation

Chernjavski A.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Center for Surgery of Aorta, Coronary and Peripheral Arteries, E.N.Meshalkin State Research Institute of Circulation Pathology, Russian Ministry of Health Care, Novosibirsk, Russian Federation

Voevoda M.I., PhD, MD (Medicine), Professor, RAMS Corresponding Member, Director, Research Institute of Therapy, Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russian Federation

Konenkov V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member of RAMS, Director, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russian Federation

Address for correspondence:

Shevchenko Alla V.

PhD, Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Siberian Branch of RAMS

630117, Russian Federation, Novosibirsk, Timakova str., 2.

Phone: 7 (383) 311-05-40.

E-mail: shalla64@mail.ru

Received 05.06.2013

Revision received 02.08.2013

Accepted 22.08.2013