

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *IL-1RAVNTR* И ВАРИАНТА *IL-1α* (C+889T) С ОСОБЕННОСТЯМИ РАЗВИТИЯ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

© 2018 г. О. А. Радаева<sup>1\*</sup>, А. С. Симбирцев<sup>2</sup>

\*E-mail: vtlbwbyf\_79@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «НИ МГУ им. Н.П. Огарева», медицинский институт, кафедра иммунологии, микробиологии и вирусологии, Саранск, Россия;

<sup>2</sup>ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 05.02.2017. Принята: 25.12.2017

Цель исследования — проанализировать связь частоты интронного полиморфизма *IL-1raVNTR* и варианта гена *IL-1α* (C+889T) с особенностями развития ЭАГ, формированием осложнений (ИМ, ОНМК) с учетом гендерной принадлежности. *Материалы и методы.* В течение 8 лет проводилось комплексное обследование 300 больных с ЭАГ II стадии. Полиморфизм генов цитокинов исследовали методом рестриктового анализа продуктов амплификации специфических участков генома. Концентрации *IL-1ra*, *IL-1α* определяли иммуноферментным методом (тест-системы eBioscience (BenderMedSystems)). *Результаты.* Развитие ЭАГ ассоциируется с генетическими вариантами *IL-1ra* — 4R/4R и 5R/5R, но при этом сочетание 4R/4R сопровождается меньшей частотой развития ИМ и ОНМК на фоне гипертензии, чем 5R/5R и 2R/2R. Пациенты с полиморфизмами *IL-1ra* 4R/4R и 5R/5R на фоне меньшей концентрации в сыворотке *IL-1ra* имеют достоверно более высокий уровень *IL-1α*. Вариант ТТ полиморфного участка —889С/Т *IL-1α* соотносится с увеличением сывороточной концентрации цитокина, без достоверного первичного повышения риска развития гипертонии, но с увеличением частоты осложнений при наличии заболевания, чаще встречается у женщин с ЭАГ. У пациентов сочетание вариантов *IL-1raVNTR/IL-1α*(C+889T) — 4R4R/ТТ — приводит к достоверному повышению риска формирования гипертонии на фоне повышенного синтеза *IL-1α* с последующим развитием осложнений (ИМ, ОНМК) до 100% случаев.

**Ключевые слова:** *IL-1ra*, *IL-1α*, полиморфизм генов, артериальная гипертензия

DOI:

### ВВЕДЕНИЕ

Анализ роли субклинического воспалительного процесса при развитии эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) является

**Адрес:** 430000, г. Саранск, ул. Ульянова, 26а. ФГБОУ ВО «НИ МГУ им. Н.П. Огарева», медицинский институт, кафедра иммунологии, микробиологии, вирусологии. Радаева Ольга Александровна. Тел./факс: +7(8342) 321983, 89053784198 (моб.).

**E-mail:** vtlbwbyf\_79@mail.ru

**Авторы:**

**Радаева О. А.**, к.м.н., доцент кафедры иммунологии, микробиологии, вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО «НИ МГУ им. Н.П. Огарева», медицинский институт, кафедра иммунологии, микробиологии и вирусологии, Саранск, Россия;

**Симбирцев А. С.**, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заместитель директора ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

актуальным как на российских, так и международных научных платформах [1]. Корегуляторные связи представителей семейства *IL-1* (*IL-1α*, *IL-1β*, *IL-1ra*), функциональный полиморфизм генов, кодирующих данные белки, и их влияние на формирование эндотелиальной дисфункции при гипертензии не вызывает сомнения [2]. При этом данные экспериментальных и клинических исследований [3, 4] сообщают диаметрально противоположные точки зрения о связи полиморфных вариантов гена *IL-1ra* с риском повреждения органов-мишеней, в виде ИМ или ОНМК. Индивидуальные особенности эндотелиальной *IL-1ra* системы пациента могут предопределять значимые клинко-прогностические характеристики развития гипертензии. В гене *IL-1ra* человека описан SNP +2018 (C → T), но более изучена полиморфная

зона в области 2 интрона, имеющая функциональное значение при ряде мультифакторальных патологий [5]. Существуют данные о связи IL-1га с изменением продукции IL-1α [6], значимого фактора у женщин с ЭАГ по результатам собственных исследований [7].

Цель исследования — проанализировать связь частоты интронного полиморфизма IL-1гаVNTR и варианта гена IL-1α (C+889T) с особенностями развития ЭАГ, формированием осложнений (ИМ, ОНМК) с учетом гендерной принадлежности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В течение 8 лет проводилось комплексное обследование 200 женщин и 100 мужчин с ЭАГ II стадии (возраст — 51,5±2,8 лет). Критерии включения в исследование: ЭАГ II стадии, не получавшие на момент начала исследования (2007 г.) гипотензивную терапию, трудоспособный возраст (женщины до 55 лет, мужчины до 60), сопоставимые схемы базовой терапии после начала исследования, подписание пациентом информированного согласия. Критерии исключения из исследования: ассоциированные клинические состояния, сахарный диабет I типа, метаболический синдром (на момент начала исследования), аутоиммунные, аллергические заболевания, симптоматическая гипертензия. Для анализа связи вариантов генотипа IL-1га с его сывороточной концентрацией, уровнем артериального давления (АД), IL-1α формировалась дополнительная группа пациентов с вариантами полиморфизма IL-1гаVNTR 2R/2R (18 чел.), 3R/4R (10 чел.), 5R/5R (5 чел.), контроль 2R/2R (20 чел.), 3R/4R (7 чел.).

Концентрации IL-1ra, IL-1α определяли иммуноферментным методом с помощью тест-систем eBioscience (BenderMedSystems). Материалом для генетического исследования служили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов венозной крови методом Laugel-Boodram [8]. Анализ локусов осуществляли методом ПЦР синтеза ДНК. ПЦР проводили на амплификаторе “Veriti” производства компании “Applied Biosystems” с использованием диагностических наборов реагентов “ТАПО-ТИЛИ” для генотипирования микросателлитного tandemного повтора IL-1га (86 bp VNTR) по схеме производителя. Для генотипирования полиморфного участка —889C/T IL-1α — (F: 5'-TGTTCTACCACCTGAAGTAGGC-3', R: 5'-CTCAGCAACACTCCTAT-3') использовали

наборы фирмы “Синтол”, придерживаясь рекомендаций производителя. Электрофорез проводили в полиакриламидном геле (36 мл 0,5 × TBE, 9 мл 30% PAAG, 250 мкл PSA, 40 мкл TEMED), содержащем бромистый этидий (0,5 мг/л) при разных значениях pH. Распределение частот генотипов изучаемых полиморфизмов генов соответствовало соотношению Харди-Вайнберга как в контроле, так и в группе ЭАГ.

Центральное систолическое аортальное давление (цСАД) измеряли с помощью аппарата A-PULSE CASPal (Сингапур). Каротидно-фemorальную скорость распространения пульсовой волны (СПВкф) определяли методом аппланационной тонометрии, (Sphygmocor, Atcor Medical, Австралия).

Для сравнительного анализа независимых выборок и выявления ассоциативных связей использован модифицированный  $\chi^2$ . Силу ассоциаций изученных генов с риском развития ЭАГ и осложнений оценивали по значениям показателя отношения шансов (odds ratio, OR) с 95% доверительным интервалом. Для статистической обработки данных использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0. Нормальность распределения показателей определяли с помощью одновыборочного критерия Колмагорова — Смирнова. Полученные данные представлены в виде среднего арифметического (M), стандартного отклонения (SD) и 95% доверительного интервала для среднего (95% ДИср), медианы (Me) при нормальном распределении показателей; для признаков с отличным от нормального распределения указывали медиану (Me) и межквартильный размах — 25-й и 75-й процентиля (C25%-C75%). Определения нормальности обосновало использование для сравнения основных групп t-критерия Стьюдента или Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При генотипировании интронного полиморфизма IL-1га у пациентов с ЭАГ встречалось носительство аллелей: 2R, 3R, 4R, 5R, а в группе относительно здоровых (контроль) вариант 5R отсутствовал (табл. 1). Вне зависимости от заболевания доминирующей являлась аллель 4R (71,5% в контрольной и 79,2% в группе исследования), без достоверного отличия ( $p > 0,05$ ). Анализ частоты генотипов IL-1га определил различие ( $p < 0,05$ ) у больных при ЭАГ с относительно здоровыми. Так, вариант 4R/4R чаще встречается у лиц с гипертензией, чем в группе

контроля. Расчет отношения шансов (OR) позволил ассоциировать данный генотип с наибольшим риском формирования ЭАГ (OR = 2,1, 95% CI [1,3–3.3],  $p < 0,05$ ). Обратная характеристика для сочетаний 2R/4R и 3R/4R, которые достоверно ассоциируются с наименьшим риском развития заболевания (OR = 0,53, 95% CI [0,3–0,9],  $p < 0,05$  и OR = 0,28, 95% CI [0,12–0,63],  $p < 0,01$ ). Генотипы 5R/5R и 3R/3R имели распространённость 3,3% и 1% в группе исследования, не определялись в контроле. Вариант 2R/2R не влиял на средний риск ЭАГ (2R/2R, OR = 0,7, 95% CI [0,3–1,6]). Анализ частоты генотипов IL-1ra определил различие ( $p < 0,05$ ) у больных ЭАГ с учетом гендерной принадлежности. Относительно здоровые лица аналогичных особенностей не имели ( $p > 0,05$ ). У женщин гипертензия ассоциируется с сочетаниями 4R/4R (OR = 3, 95% CI [1,5–5,8],  $p < 0,05$ ) и 5R/5R. У мужчин вариант 4R/4R достоверно не повышает риск – OR = 1,3, 95% CI [0,56–2,29], ( $p > 0,05$ ), заболевание соотносится с сочетанием 2R/2R – OR = 6,9, 95% CI [2–22],  $p < 0,01$ . У пациенток аллельный вариант 2R/2R встречается реже при сравнении, как с лицами противоположного пола при гипертензии ( $p < 0,001$ ), так и со здоровыми женщинами ( $p < 0,01$ ) и выступает протективным, достоверно снижая шанс заболевания (OR = 0,27, 95% CI [0,08–0,83],  $p < 0,05$ ). Защитные свойства у женщин также проявили гетерозиготные генотипы (2R/4R и 3R/4R), снижая риск формирования ЭАГ: OR = 0,37, 95% CI [0,39–0,79],  $p < 0,01$  и OR = 0,25, 95% CI [0,09–0,7],  $p < 0,05$ . У мужчин подобная связь выявлена ( $p < 0,05$ ) только с гетерозиготным вариантом 3R/4R – OR = 1,3, 95% CI [0,3–0,77].

При оценке ассоциации данного полиморфизма с повышением АД у больных ЭАГ с равной длительностью заболевания установлено снижение частоты встречаемости генотипов 2R/2R, 2R/4R и увеличение варианта 4R/4R, 5R/5R в соответствии с ростом степени повышения артериального давления (табл. 1). Данная тенденция достоверно выражена при переходе от нормального и высоко нормального артериального давления к I степени артериальной гипертензии ( $p < 0,01$ ), от I степени ко II ( $p < 0,01$ ) и сохраняется при III степени. Гендерных особенностей выявлено не было. Учитывая малое число пациентов с генотипами 2R/2R, 3R/4R, 5R/5R был проведен дополнительный анализ группы с введением пациентов, имеющих необходимый вариант сочетаний аллелей (табл. 2). Уровень цСАД был максимальным

Таблица 1. Сравнительная характеристика частот распределения генотипов IL-1ra 86BP VNTR у больных с ЭАГ, % (человек)

| Генотипы                | 2R        | 3R       | 4R         | 5R        | 2R/2R     | 2R/4R     | 3R/3R   | 3R/4R   | 4R/4R      | 5R/5R    | $\chi^2$                          |
|-------------------------|-----------|----------|------------|-----------|-----------|-----------|---------|---------|------------|----------|-----------------------------------|
| Контроль, n = 100       | 22 (44)   | 6,5 (13) | 71,5 (143) | –         | 10 (10)   | 24 (24)   | –       | 13 (13) | 53 (53)    | –        |                                   |
| Женщины, n = 50         | 25 (25)   | 7 (7)    | 68 (68)    | –         | 12 (6)    | 26 (13)   | –       | 14 (7)  | 48 (24)    | –        |                                   |
| Мужчины, n = 50         | 19 (19)   | 6 (6)    | 75 (75)    | –         | 8 (4)     | 22 (11)   | –       | 12 (6)  | 58 (29)    | –        | 2,2 $p > 0,05^{2*}$               |
| Больные, n = 300        | 14,5 (87) | 3 (18)   | 79,2 (475) | 3,3 (20)  | 7,3 (22)  | 14,4 (43) | 1 (3)   | 4 (12)  | 70 (210)   | 3,3 (10) | 11,7 ( $p < 0,05$ ) <sup>1*</sup> |
| Женщины, n = 200        | 9,3 (37)  | 4 (16)   | 82,7 (182) | 4 (16)    | 3,5 (7)   | 11,5 (23) | 1,5 (3) | 5 (10)  | 74,5 (149) | 4 (8)    | 25,7 ( $p < 0,01$ ) <sup>2*</sup> |
| Мужчины, n = 100        | 25 (50)   | 1 (2)    | 72 (144)   | 2 (4)     | 15 (15)   | 20 (20)   | –       | 2 (2)   | 61 (61)    | 2 (2)    | 11,4 ( $p < 0,05$ ) <sup>3*</sup> |
| I степень ЭАГ, n = 125  | 24,8 (62) | 3,2 (8)  | 72 (180)   | –         | 12,8 (16) | 24 (30)   | 2,4 (3) | 1,6 (2) | 59,2 (74)  | –        | 14,2 ( $p < 0,05$ ) <sup>5*</sup> |
| II степень ЭАГ, n = 120 | 7,1 (17)  | 3,3 (8)  | 86,3 (207) | 3,3 (8)   | 3,3 (4)   | 7,5 (9)   | –       | 6,7 (8) | 79,2 (95)  | 3,3 (4)  | 12 ( $p < 0,05$ ) <sup>1*</sup>   |
| III степень ЭАГ, n = 55 | 7,3 (8)   | 1,8 (2)  | 80 (88)    | 10,9 (12) | 3,6 (2)   | 7,3 (4)   | –       | 3,6 (2) | 74,6 (41)  | 10,9 (6) | 26 ( $p < 0,01$ ) <sup>7*</sup>   |
|                         |           |          |            |           |           |           |         |         |            |          | 29 $p < 0,01^{7*}$                |

Примечание: \* достоверность при сравнении с указанной группой (1–9).

**Таблица 2.** Частота генотипов IL-1ra 86BP VNTR у больных с ЭАГ в зависимости от развития ИМ, ОНМК, % (человек)

| Генотипы                     | 2R | 3R        | 4R       | 5R        | 2R/2R     | 2R/4R     | 3R/3R   | 3R/4R    | 4R/4R      | 5R/5R    | $\chi^2$                                                   |
|------------------------------|----|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|----------|------------|----------|------------------------------------------------------------|
| Больные с ИМ, ОНМК (n = 69): | 1  | 21,7 (30) | 5,1 (7)  | 13,1 (18) | 14,5 (10) | 14,5 (10) | —       | 10,1 (7) | 47,8 (33)  | 13,1 (9) |                                                            |
| Женщины (n = 35)             | 2  | 5,7 (4)   | 7,1 (5)  | 20 (14)   | 5,7 (2)   | —         | —       | 14,3 (5) | 60 (21)    | 20 (7)   |                                                            |
| Мужчины (n = 34)             | 3  | 10,6 (26) | 2,9 (2)  | 6,2 (4)   | 23,3 (8)  | 29,4 (10) | —       | 5,9 (2)  | 35,3 (12)  | 5,9 (2)  | 57,6 (p < 0,001) <sup>2*</sup>                             |
| Без ИМ, ОНМК, (n = 231):     | 4  | 12,3 (57) | 2,4 (11) | 0,4 (2)   | 5,2 (12)  | 14,3 (33) | 1,3 (3) | 2,2 (5)  | 76,6 (177) | 0,4 (1)  | 29,3 (p < 0,01) <sup>1*</sup>                              |
| Женщины (n = 165)            | 5  | 10 (33)   | 3,3 (11) | 0,6 (2)   | 3 (5)     | 14 (23)   | 1,8 (3) | 3 (5)    | 77,6 (128) | 0,6 (1)  | 44,4 (p < 0,01) <sup>2*</sup>                              |
| Мужчины (n = 66)             | 6  | 18,2 (24) | —        | —         | 10,6 (7)  | 15,2 (10) | —       | —        | 74,2 (49)  | —        | 34 (p < 0,01) <sup>3*</sup><br>44 (p < 0,01) <sup>5*</sup> |

Примечание: \* достоверность при сравнении с указанной группой (1–6)

при генотипах 4R/4R и 5R/5R, что совпало с тенденциями при анализе генотипических вариантов и степени артериальной гипертензии. Так же определено, что у лиц с ЭАГ и генотипами 4R/4R и 5R/5R в 42% случаев СПВкф более 12 м/с, при других аллельных сочетаниях менее 20% случаев.

У больных с ИМ на фоне ЭАГ без учета половой принадлежности риск соотносился с генотипами 2R/2R и 5R/5R (OR = 3,1, 95% CI [1,27–7,5],  $\chi^2 = 6,8$ , p < 0,01, C' = 0,21 (связь средняя) и OR = 34,6, 95% CI [4,3–277], C' = 0,4 (связь относительно сильная)), а вариант 4R/4R выступил как снижающий вероятность осложнений в 3,5 раза (OR = 0,28, 95% CI [0,16–0,49]) на фоне повышенного АД (табл. 2). У мужчин с ЭАГ данная тенденция сохранилась: повышение частоты ИМ, ОНМК незначительно чаще встречается при генотипе 2R/2R (OR = 2,59, 95% CI [1,19–7,9],  $\chi^2 = 2,01$ , p < 0,05, C' = 0,24 (связь слабая)). При этом площадь поражения миокарда была больше у лиц с носительством 2R/2R. Вариант 4R/4R выступил как достоверно протективным (OR = 0,2, 95% CI [0,08–0,46],  $\chi^2 = 14,3$ , p < 0,01, C' = 0,5 (связь относительно сильная)). Генотип 4R/4R чаще встречаясь в группе женщин с ЭАГ сохранил связь со снижением вероятности развития сердечно-сосудистых осложнений при сравнении с пациентками, имеющими повышенное АД и благоприятное течение заболевания (OR = 0,4, 95% CI [0,2–0,9], p < 0,05). У пациенток с ЭАГ отсутствовали осложнения при сочетании аллелей 2R/4R, а вариант 5R/5R выступил как абсолютно неблагоприятный в отношении развития осложнений (OR = 34,5, 95% CI [4,3–277]), но ограниченное число наблюдений.

Анализ сывороточного уровня IL-1ra в изучаемой группе больных (показатели 5 года наблюдения, средняя длительность заболевания – 10 лет) и контрольной достоверных отличий не выявил (680 (101) пг/мл и 575 (108) – (p > 0,05)). При этом у здоровых мужчин и женщин (период менопаузы) сопоставимые концентрации цитокина: 710 (58) пг/мл и 660 (87) пг/мл, а в группе ЭАГ пациентки имеют показатель IL-1ra достоверно ниже как при сопоставлении с мужчинами с гипертензией (465 (74) пг/мл и 602 (103) пг/мл – p < 0,01), так и при сравнении со здоровыми женщинами (p < 0,01). Важно отметить, что у женщин с ЭАГ определены более низкие концентрации эстрадиола (42,2 (20,5) пг/мл и 62,8 (21,1) пг/мл соответственно), без отличий при сравнении разных полиморфных вариантов гена IL-1ra. При сопоставлении

генотипа и сывороточного уровня IL-1ra выявлено достоверное снижение концентрации у больных ЭАГ от генотипа 2R/2R к вариантам 2R/4R → 3R/4R, 4R/4R → 5R/5R (табл. 3), без гендерных особенностей. У здоровых лиц концентрация IL-1ra ниже только при сочетании аллелей 4R/4R ( $p < 0,05$  –  $p < 0,01$ ). Учитывая многочисленные данные о влиянии IL-1ra на синтез IL-1α, проведен анализ связи генотипа IL-1ra и сывороточной концентрации IL-1α у больных с ЭАГ. При патологии средний показатель был достоверно выше ( $p < 0,001$ ) чем в контроле и равен 13,2 (2,9) пг/мл (мужчины – 8,8 (0,93) пг/мл, женщины – 17,7 (2,1) пг/мл), в контроле – 3,6 (1,2) пг/мл (мужчины – 2,6 (0,23) пг/мл, женщины – 4,4 (0,82) пг/мл). При межгендерном анализе отличия сохранили высокий уровень значимости ( $p < 0,001$ ), женщины имели достоверно более высокий IL-1α. Наименьшая концентрация IL-1α как на фоне гипертензии, так и у здоровых при варианте 2R/2R,  $p < 0,001$  (при патологии мужчины – 5,9 [4,2–10,4] пг/мл, женщины – 6,5 [4,0–10,4] пг/мл,  $p > 0,05$ , т.е. без гендерных отличий). Двукратное увеличение в сравнении с сочетанием 2R/2R у лиц с ЭАГ, имеющих вариант 2R/4R и 3R/4R (сопоставимые показатели, без достоверных гендерных особенностей). Максимальные показатели у больных с генотипами 4R/4R и 5R/5R, выявлены половые отличия при варианте 4R/4R: мужчины – 10,8 [8,76–11,5] пг/мл, женщины – 19,3 [17,4–23,3],  $p < 0,001$ . В группе 5R/5R из 15 человек только 2 мужчины, что ограничивает анализ особенностей.

Анализ частоты генотипов IL-1α (C+889T) у больных с ЭАГ выявил (табл. 4) различие от относительно здоровых ( $p < 0,05$ ). Регистрируется превалирование гомозиготные вариантов (CC-OR = 1,62, 95% CI [1,1–2,6],  $\chi^2 = 3,9$ ,  $p < 0,05$ , C' = 1,24 (связь слабая) и TT – OR = 2,9, 95% CI [1,01–9,95],  $\chi^2 = 9,3$ ,  $p < 0,01$ , C' = 0,2 (связь средняя). При этом у женщин чаще встречалось сочетание TT (но без достоверного повышения шанса развития патологии (OR = 2,7, 95% CI [0,6–11],  $\chi^2 = 2,11$ ,  $p > 0,05$ , C' = 0,11 (связь слабая)), а у мужчин вариант CC (OR = 1,86, 95% CI [1,05–3,12],  $\chi^2 = 4,01$ ,  $p < 0,05$ , C' = 0,21 (связь слабая). Генотип СТ выступил условно прогностическим с низкой степенью достоверности как у женщин (OR = 0,48, 95% CI [0,25–0,9],  $\chi^2 = 5,3$ ,  $p < 0,05$ , C = 0,2 (связь слабая), так и у мужчин (OR = 0,45, 95% CI [0,22–0,9],  $\chi^2 = 5$ ,  $p < 0,05$ , C = 0,26 (связь средняя)). У больных с ИМ, ОНМК на фоне ЭАГ без учета половой принадлежности риск соотносился

Таблица 3. Сопоставление генотипов IL-1ra 86BP VNTR больных с ЭАГ с сывороточными уровнями IL-1ra и IL-1α, цСАД Me (C25%-C75%)

|                   | 2R/2R               | 2R/4R                                  | 3R/3R            | 3R/4R                                     | 4R/4R                                            | 5R/5R                                                       |
|-------------------|---------------------|----------------------------------------|------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Больные ЭАГ, чел. | 1                   | 2                                      | 3                | 4                                         | 5                                                | 6                                                           |
| IL-1ra, пг/мл     | 40<br>580 [532–620] | 43<br>510 [481–547]<br>$p < 0,05^{1*}$ | –                | 22<br>400 [372–429]<br>$p < 0,001^{1,2*}$ | 50<br>386 [350–427] $p < 0,001^{1,2*}$           | 15<br>310 [296–347]<br>$p < 0,001^{1,2,3,4}, p < 0,05^{5*}$ |
| цСАД, мм ртст     | 149 [141–152]       | 152 [149–172]<br>$p < 0,05^{1*}$       | 146<br>[144–151] | 153 [149–170] $p < 0,05^{3*}$             | 166 [148–189] $p < 0,001^{1,3}, p < 0,05^{2,4*}$ | 178 [173–188]<br>$p < 0,001^{1,2,3,4*}$                     |
| IL-1α, пг/мл      | 6,2 [4,4–8,2]       | 9,8 [6,1–12] $p < 0,05^{1*}$           | –                | 9,5 [7,4–11,3] $p < 0,05^{1*}$            | 20,2 [9,1–23] $p < 0,001^{1*}, p < 0,01^{2,4*}$  | 26 [21,1–31,6]<br>$p < 0,001^{1,2,4*}, p < 0,05^{5*}$       |
| Контроль, чел.    | 30                  | 25                                     | –                | 20                                        | 43                                               | –                                                           |
| IL-1ra, пг/мл     | 647 [617–798]       | 633 [611–778]                          | –                | 625 [575–653]                             | 537 [454–607] $p < 0,01^{1,2*}, p < 0,05^{4*}$   | –                                                           |
| IL-1α, пг/мл      | 1,2 [0,47–1,85]     | 3,4 [2,9–3,7]<br>$p < 0,01^{1*}$       | –                | 3,83 [3,26–5,5]<br>$p < 0,001^{1*}$       | 4,21 [3,82–6]<br>$p < 0,001^{1*}, p < 0,05^{2*}$ | –                                                           |

Примечание: \* достоверность при сравнении с указанными группами (1–6).

Таблица 4. Сравнительная характеристика частот распределения генотипов IL1αC+889T у больных с ЭАГ, % (человек)

| Генотип                    | C          | T          | C/C        | C/T       | T/T       | χ <sup>2</sup>                                             |
|----------------------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|------------------------------------------------------------|
| Группа контроля, n = 100   | 72,5 (147) | 26,5 (55)  | 48 (48)    | 49 (49)   | 3 (3)     |                                                            |
| Женщины, n = 50            | 71 (71)    | 29 (29)    | 46 (23)    | 50 (25)   | 4 (2)     |                                                            |
| Мужчины, n = 50            | 74 (74)    | 26 (26)    | 50 (25)    | 48 (24)   | 2 (1)     |                                                            |
| Больные ЭАГ, n = 300       | 75,8 (455) | 24,2 (145) | 60 (180)   | 31,7(95)  | 8,3 (25)  | 0,43 (p > 0,05) <sup>2*</sup>                              |
| Женщины, n = 200           | 48,7 (195) | 26,3 (105) | 57,5 (115) | 32,5 (65) | 10 (20)   | 7,5 (p < 0,05) <sup>1*</sup>                               |
| Мужчины, n = 100           | 80 (160)   | 20 (40)    | 65 (65)    | 30 (30)   | 5 (5)     | 6,4 (p < 0,05) <sup>2*</sup>                               |
| Больные с Им, ОНМК, n = 69 | 63,8(88)   | 36,2(50)   | 49,3 (34)  | 29 (20)   | 21,7 (15) | 5 (p > 0,05) <sup>3*</sup>                                 |
| Женщины, n = 35            | 45,7 (32)  | 54,3 (38)  | 28,6 (10)  | 34,3 (12) | 37,1 (13) | 2,7 (p > 0,05) <sup>5*</sup>                               |
| Мужчины, n = 34            | 82,4 (56)  | 17,6 (12)  | 70,6 (24)  | 23,5 (8)  | 5,9 (2)   | 17,4 p < 0,01 <sup>1*</sup>                                |
| ИМ, ОНМК, n = 231          | 79,4 (367) | 20,6 (95)  | 63,2 (146) | 32,5 (75) | 4,3 (10)  | 15,6 p < 0,01 <sup>2*</sup>                                |
| Женщины, n = 165           | 79,7(263)  | 20,3 (67)  | 63,6 (105) | 32,2 (53) | 4,2 (7)   | 5,5 p > 0,05 <sup>3*</sup>                                 |
| Мужчины, n = 66            | 78,8 (104) | 21,2 (28)  | 62,1 (41)  | 33,3 (22) | 4,6 (3)   | 14,6 (p < 0,01) <sup>8*</sup>                              |
|                            |            |            |            |           |           | 21,4 (p < 0,01) <sup>7*</sup>                              |
|                            |            |            |            |           |           | 37 (p < 0,01) <sup>8*</sup>                                |
|                            |            |            |            |           |           | 1,4 (p > 0,05) <sup>9*</sup> 0,48(p > 0,05) <sup>11*</sup> |

Примечание: \* достоверность при сравнении с указанной группой (1–12).

и стабильность матричной РНК IL-1ra [10, 11]. С этих позиций, можно объяснить выявленную меньшую сывороточную концентрацию IL-1ra у пациентов с ЭАГ, имеющих аллельные варианты 4R/4R и 5R/5R. Учитывая, что среди женщин с гипертензией в большем проценте, чем среди условно здоровых встречаются указанные сочетания, то это может быть одним из факторов, влияющих на снижение среднего сывороточного показателя у данной категории. Кроме этого пациентки с повышенным АД имели более низкие концентрации эстрадиола (фактора, обладающего стимулирующим действием в отношении синтеза IL-1ra [12]), в сравнении с контролем, но концентрации гормона были сопоставимы при разных вариантах гена IL-1ra, что указывает на отсутствие влияния данного фактора на сывороточную концентрацию внутри группы больных ЭАГ при увеличении tandemных повторов и подтверждает достоверность зарегистрированных генетических различий. Выявленные особенности приводят к снижению буферной противовоспалительной активности IL-1ra, что способствует реализации эффектов провоспалительных представителей данного семейства (IL-1β и IL-1α), повышение которых как по результатам собственных исследований, так и по данным литературы [2] зарегистрировано у лиц с гипертензией и является значимым компонентом прогрессирования заболевания. Важно отметить, что у больных с ЭАГ сочетания 4R/4R и 5R/5R ассоциируется со степенью повышения АД, нарастанием цСАД и увеличением числа пациентов СПВкф более 12 м/с (порогового значения для повышения риска сердечно-сосудистых осложнений). Уровень центрального САД в отличие от периферического САД модулируется в зависимости от эластических характеристик крупных артерий, являясь показателем, косвенно связанным с состоянием всего сосудистого русла [13], а СПВкф отражает в первую очередь жесткость аорты (Российские рекомендации по диагностике и лечению артериальной гипертензии [2008–2010] рекомендуют использовать СПВкф в качестве доклинического критерия поражения магистральных сосудов при ЭАГ). Увеличение жесткости сосудистой стенки, ремоделирование на фоне снижения концентрации IL-1ra у пациентов с аллельными сочетаниями 4R/4R, 5R/5R может быть связано со снижением ингибирующего действия данного цитокина на активность MMP-13 [6], влияющей на степень деградации коллагена, что приводит к перестройке экстрацеллюлярного

с генотипом ТТ ( $OR = 6,14$ , 95% CI [2,6–6,14],  $\chi^2 = 21,1$ ,  $p < 0,01$ ,  $C' = 0,36$  (связь средняя), а вариант СС выступил как снижающий вероятность осложнений ( $OR = 0,56$ , 95% CI [0,34–0,91],  $\chi^2 = 4,29$ ,  $p < 0,05$ ,  $C' = 0,18$  (связь слабая) на фоне повышенного АД. У женщин с ЭАГ данная тенденция определена как достоверная: генотип ТТ повышал частоту развития осложнений на фоне повышенного АД ( $OR = 13,3$ , 95% CI [4,8–37],  $\chi^2 = 34,7$ ,  $p < 0,001$ ,  $C' = 0,54$  (относительно сильная)), распределение вариантов отличалось и от лиц противоположного пола с прогрессирующим течением (ИМ, ОНМК). У мужчин с осложнениями значимых отличий по сочетанию аллелей гена IL-1 $\alpha$  от пациентов сопоставимых по полу, но без осложнений, не выявлено.

У женщин проведен анализ связи сочетаний генотипических вариантов IL-1 $\alpha$  (C+889T) и IL1- $\gamma$ VNTR с развитием осложнений на фоне ЭАГ. Женщины с осложнениями: 12 человек – 4R4R/TT, 9–4R4R/CT, 6–5R5R/CC, 4–3R4R/CC, 2–2R2R/CT, 1–3R4R/TT, 1 случай – 5R5R/CT. При сопоставлении с распределением у пациентов без осложнений при длительности заболевания менее 15 лет (100 чел. – 4R4R/CC, 28–4R4R/CT, 16–2R4R/CT, 13–3R3R/CT, 5–2R4R/TT, 5–3R4R/CT, 2–2R2R/TT, 1–5R5R/CC) выявлено, что наиболее значимыми в отношении формирования ИМ, ОНМК являлись: 4R4R/TT – в 100% соотносилась с неблагоприятным течением, 5R5R/CC – 85% (при длительности ЭАГ менее 15 лет), потенциальным прогностическим значением обладает сочетание 5R5R/TT, но оно не встречалось в группе исследования с ЭАГ.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Растущий объем научных данных, описывающих роль семейства IL-1 при формировании ЭАГ, не дает однозначного ответа о месте IL-1 $\gamma$  в иммунопатогенезе при данной патологии. В настоящее время отсутствуют доказательства того, что IL-1 $\gamma$  может иметь самостоятельную роль при развитии осложнений при гипертензии [2, 9], спорным является вопрос о связи с уровнем АД. В представленном исследовании по результатам генотипирования интронного полиморфизма IL-1 $\gamma$  у больных с ЭАГ определено, что заболевание ассоциируется с вариантами, характеризующимися большим числом tandemных повторов – 4R/4R и 5R/5R. По данным литературы аллель с большим числом повторов определяет меньший уровень транскрипционной активности, сплайсинга

матрикса сосудистой стенки и способствует закреплению изменения геометрии сосуда, а также за счет отсутствия конкурентного блокирования IL-1 $\beta$ -индуцированной активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B в гладкомышечных клетках сосудов, играющего существенную роль при развитии субклинической воспалительной реакции сосудистой стенки [14]. При этом степень значимости выявленных генетических закономерностей, связанных с вариантами 4R/4R и 5R/5R варьирует в зависимости от половой принадлежности. Данная тенденция в первую очередь достоверно выражена у женщин, что обосновывает клинко-патогенетическую значимость анализа особенностей генетики IL-1 $\gamma$  при ЭАГ с учетом гендерной принадлежности и подтверждает гетерогенность механизмов развития данной патологии у мужчин и женщин. У женщин сочетание 2R/2R соотносится не только с более высокими концентрациями IL-1 $\gamma$  в сыворотке, но и снижает риск развития гипертонической болезни. У мужчин наоборот является фактором с большей частотой встречаемости в популяции больных при сравнении с условно здоровыми мужчинами и соотносится как с повышенной вероятностью осложнений на фоне ЭАГ, так и с увеличением площади повреждения миокарда, что требует дальнейшего изучения при увеличении числа пациентов с ИМ на фоне гипертензии. Больные с ЭАГ вне зависимости от пола при аллельном варианте 4R/4R (соотносящимся с повышенной вероятностью гипертонии) имели меньший риск развития сердечно-сосудистых осложнений, чем при формировании гипертензии на фоне сочетания 2R/2R, что указывает на различные IL-1 $\gamma$ -зависимые механизмы при закреплении повышенного АД от изменений, способствующих развитию ИМ, ОНМК. Сочетание 5R/5R (максимальное число tandemных повторов в группе исследования) являлось редким, было зарегистрировано только в группе ЭАГ, в большем проценте у женщин, соотносилось с минимальными концентрациями IL-1 $\gamma$ , II–III степенью повышения АД, наибольшим повышением  $\rho$ САД, что подтверждает выявленные иммунопатогенетические закономерности при повышении числа tandemных повторов анализируемые выше, и являлось абсолютным фактором риска осложнений (90%) на фоне ЭАГ при длительности заболевания менее 15 лет. Для подтверждения клинко-диагностической и прогностической ценности выявленных особенностей при развитии ЭАГ у лиц

с генотипическим вариантом 5R/5R, определяющим повышенный риск условно ранних осложнений (до 65 лет) необходимо увеличить число пациентов с указанной характеристикой.

Некоторые разнонаправленные изменения у мужчин и женщин при ЭАГ обосновали необходимость поиска фактора, связанного с активностью *IL-1ra*, но имеющего гендерные особенности. По результатам данного и предыдущих этапов работы [7] зарегистрированы клинико-патогенетически значимые гендерные отличия уровня сывороточного *IL-1α* (достоверно большие сывороточные концентрации) у пациентов с ЭАГ, способствующие формированию дисфункции эндотелия, ремоделированию сосудистой стенки. По результатам анализируемого исследования пациенты с генотипическими вариантами интронного полиморфизма *IL-1ra* 4R/4R и 5R/5R на фоне меньшей концентрации в сыворотке *IL-1ra* имеют достоверно более высокий уровень *IL-1α* с наибольшей выраженностью у женщин. Гендерные особенности при других вариантах не определены. *IL-1ra* по данным последних работ [6], является не только конкурентом за рецептор для *IL-1α*, но и способен на ядерном уровне снижать активность процесса его синтеза. Возможно это еще один значимый эффект действия *IL-1ra* в патогенезе ЭАГ, который совместно с механизмами гидродинамического стресса, а у женщин и на фоне снижения защитной функции эстрадиола в период менопаузы, способствуют повышению сывороточной концентрации *IL-1α*. *IL-1α* в свою очередь обладая прямым стимулирующим действием на пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, стимулирует процессы фиброобразования, способствуя увеличению жесткости сосудистой стенки и снижению ее податливости, совместно с другими факторами определяя выявленное в нашем исследовании прогрессирование ЭАГ в виде закрепления высоких цифр АД, в частности цСАД. В данном случае *IL-1ra* является компонентом мультифакторального механизма, повышающего уровень *IL-1α*, с особенностями реализации на фоне гормонального статуса женщин. При этом у женщин с ЭАГ в большем проценте случаев встречается вариант ТТ полиморфного участка –889С/Т *IL-1α* соотносящийся с повышенной способностью к его производству, без достоверного повышения риска гипертонии, но с увеличением частоты развития осложнений. У мужчин с осложнениями значимых отличий по сочетанию аллелей гена *IL-1α* от пациентов сопоставимых по полу, но без осложнений, не

выявлено. При анализе связи сочетаний генотипических вариантов *IL-1α* (С+889Т) и *IL-1ra*VNTR с развитием осложнений на фоне ЭАГ II стадии у женщин выявлено, что пациентки с повторяющимися tandemными повторами (физиологически меньшие концентрации *IL-1ra* и снижение антагонистических характеристик в отношении синтеза *IL-1α*), попадают в группу риска как по формированию ЭАГ, так и развития ИМ, ОНМК, что усиливается при сочетании с генетическим вариантом ТТ полиморфного участка –889С/Т *IL-1α* соотносящегося с повышенной способностью к его производству.

Генотипические и фенотипические характеристики *IL-1ra* пациента с ЭАГ – значимый компонент как в общей, так и в индивидуальной схеме иммунопатогенеза заболевания, определяя степень прогрессирования как опосредованно, через перепрограммирование функциональной активности провоспалительных членов семейства *IL-1*, в частности *IL-1α*, так и имея потенциальную возможность изменять выраженность действия некоторых металлопротеиназ сосудистой стенки, что определяет процессы ремоделирования и соотносится с клинически значимыми факторами риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Анализ гендерных особенностей полиморфных вариантов подтверждает актуальность разработки прогностических подходов с совместным анализом *IL-1ra* и *IL-1α* с наибольшей клинико-диагностической ценностью у женщин с ЭАГ. Дальнейшие работы по исследованию относительно редких сочетаний аллелей данных цитокинов открывают перспективы реализации персонализированного подхода с возможной индивидуальной тактикой применения препаратов, корректирующих функционирование цитокинопосредованных звеньев гипертензии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Rodriguez-Iturbe B., Pons H., Quiroz Y. The Immunological Basis of Hypertension. *American Journal of Hypertension* 2014, 27(11), 1327–1337.
2. Vanhala M., Kautiainen H., Kumpusalo E. Proinflammation and hypertension: a population-based study. *Mediators of Inflammation*, vol. 2008, Article ID619704, 7 pages. doi:10.1155/2008/619704
3. Peddareddygar L.R., Sen S., Pahwa A., Levenstien M.A., Grewal R.P. Analysis of the interleukin-1 receptor antagonist gene variable number tandem repeats in



- ischemic stroke. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2014, 23(6), 1599–1603.
4. Gromadzka G., Sarzynska-Dlugosz I., Czlonkowska A. IL1R Nintron 2 polymorphism caused by variable number tandem repeats is associated with 1-year outcome in patients with ischaemic stroke. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2007, 78(2), 183–186.
  5. Симбирцев А.С. Интерлейкин-1. Физиология. Патология. Клиника. СПб.: Фолиант, 2011, 480. [Simbirsev A.S. Interleukin-1. Physiology. Pathology. Clinic. "Izdatel'stvoFoliant", St. Petersburg, 2011, 480].
  6. Goto H., Ishihara Y., Kikuchi T., Izawa A., Ozeki N. Interleukin-1 Receptor Antagonist Has a Novel Function in the Regulation of Matrix Metalloproteinase-13 Expression. *PLoS ONE* 2010, 10(10), e0140942. <http://doi.org/10.1371/>
  7. Радаева О.А., Симбирцев А.С. Гендерные особенности системы интерлейкина-1 у женщин с эссенциальной артериальной гипертензией. Цитокины-воспаление 2014, Т. 13, № 3, 31–37. [Radaeva O.A., Simbirsev A.S. Gender-dependent changes in interleukin 1 system in women with essential arterial hypertension. *Cytokines and Inflammation* 2014, T. 13, № 3, 31–37].
  8. Boodram Laura-Lee. Extraction of genomic DNA from whole blood / Protocol Online – Your Lab's Reference Book – online database of research protocols in a variety of life science fields. 1999–2006. <http://www.protocol.org/prot/Protocols/Extraction-of-genomic-DNA-from-whole-blood-3171.html>.
  9. Goracy J., Goracy I., Safranow K., Taryma O. Lack of association of interleukin-1 gene cluster polymorphisms with angiographically documented coronary artery disease: demonstration of association with hypertension in the Polish population. *Arch. Med. Res.* 2011, 42(5), 426–432.
  10. Aren W.P., Malyak M., Guthridge C.J. Interleukin-1 receptor antagonist: Role in Biology. *Annu. Rev. Immunol.* 1998, 16, 2–55.
  11. Nicklin M.J., Hughes D.E., Barton J.L., Ure J.M., Duff G.W. Arterial inflammation in mice lacking the interleukin 1 receptor antagonist gene. *J. Exp. Med.* 2000, 191(2), 303–312.
  12. Witkin S.S., Gerber S., William J. Ledger Influence of Interleukin-1 Receptor Antagonist Gene Polymorphism on Disease. *Clin. Infect. Dis.* 2002, 34 (2), 204–209
  13. Herbert A., Cruickshank J.K., Laurent S., Boutouyrie P. Establishing reference values for central blood pressure and its amplification in a general healthy population and according to cardiovascular risk factors. *Eur. HeartJ.* 2014, 35(44), 3122–3133.
  14. Xu S., Zhi H., Hou X., Cohen R.A., Jiang B. IκBβ attenuates angiotensin II-induced cardiovascular inflammation and fibrosis in mice. *Hypertension* 2011, 58, 310–316.

## A STUDY ON THE ASSOCIATION OF *IL-1RAVNTR* AND *IL-1α* (C+889T) GENE POLYMORPHISMS WITH FEATURES OF ESSENTIAL HYPERTENSION

© 2018 г. О. А. Radaeva<sup>1\*</sup>, А. S. Simbirsev<sup>2</sup>

\*E-mail: [vtlbwbyf\\_79@mail.ru](mailto:vtlbwbyf_79@mail.ru)

<sup>1</sup>Mordovian State N. P. Ogariov University, Saransk, Russia;

<sup>2</sup>State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia

Received: 05.02.2017. Accepted: 25.12.2017

**Objective:** the analysis of the relationship between polymorphisms *IL1-raVNTR*, C+889T gene *IL-1α* and features of essential hypertension (the risk myocardial infarction and stroke among men and women). **Methods:** The 300 patients with II stage essential hypertension were followed for 8 years. Polymorphism of cytokine genes (*IL-1ra* (86 bp *VNTR*), –889C/T *IL-1α*) were examined by the method restrictor analysis of amplification products specific regions of the genome. Concentrations of *IL-1ra*, *IL-1α* in serum were measured by ELISA (test systems eBioscience (Bender MedSystems)). **Results:** Genotyping of interleukin 1 receptor antagonist genes (*IL-1ra*86bp *VNTR*) has shown positive associations between the intron 2 *IL-1ra* – 4R/4R, 5R/5R microsatellite polymorphism and the risk of arterial hypertension development. The 5R/5R, 2R/2R were associated significantly with risk of stroke and myocardial infarction in patients with essential hypertension. Patients with polymorphisms of *IL-1ra* 4R/4R and 5R/5R have a lower concentration of *IL-1Pa* and higher levels of *IL-1α* in serum than otherpatients. Variant TT polymorphism –889C/T *IL-1α* is correlated with an increase in the concentration of *IL-1α* in the serum, without changing the frequency of hypertension, but increases the risk of myocardial infarction and stroke in patients with hypertension (mostly women). Allele 4R/4R (*IL1-raVNTR*) is associated with hypertension and its combination with – TT variant with *IL-1α* (C + 889T) polymorphisms contribute to the development of myocardial infarction and stroke in women.

**Key words:** *IL-1ra*, *IL-1α*, gene polymorphism, essential hypertension.

**Authors:**

**Radaeva O. A.**,  PhD (Medicine), docent of chair of Immunology, Microbiology, Virology, Mordovian State N. P. Ogariov University, 26a, St. Ulyanova, Saransk, Russia; 430000 Saransk, 26a, St. Ulyanova, Microbiology, Virology, Mordovian State N. P. Ogariov University. Phone/ fax: +7(8342) 321983 (off.), +89053784198 (mob.). **E-mail:** vtlbwbyf\_79@mail.ru;

**Simbirtsev A. S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, deputy director of Institute of Highly Pure Biopreparations State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, 7, St. Pudozhsky, St. Petersburg, Russia