

# Анализ ассоциаций полиморфизма -627с/а гена интерлейкина-10 с сердечно-сосудистыми заболеваниями в Башкортостане

Я. Р. Тимашева<sup>1</sup>, Г. Х. Тулякова<sup>1</sup>, Т. Р. Насибуллин<sup>1</sup>,  
А. Н. Закирова<sup>2</sup>, И. М. Карамова<sup>3</sup>, О. Е. Мустафина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, лаборатория биохимической генетики человека

<sup>2</sup> ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, кафедра кардиологии и функциональной диагностики ИПО

<sup>3</sup> Республиканский кардиологический диспансер

## Резюме

Проведен анализ ассоциаций полиморфизма -627С/А гена интерлейкина-10 с развитием инфаркта миокарда (ИМ) в популяции татар, проживающих в Башкортостане.

Нами обнаружено, что в группе больных, перенесших инфаркт до 45 лет, в отличие от лиц без признаков ССЗ того же возраста, повышена частота генотипа -627\*С/\*А (37,93% и 22,73% соответственно,  $P=0,047$ ). Среди больных с манифестацией заболевания в 45 лет и позже, по сравнению с контрольной группой, наблюдается значительное повышение частоты генотипа -627\*С/\*С (75,44% и 48,39% соответственно,  $P=0,018$ ) и аллеля -627\*С (87,72% и 69,35% соответственно,  $P=0,004$ ).

Таким образом, в возрасте до 45 лет риск ИМ повышен у носителей генотипа -627\*С/\*А ( $OR=2,08$ ,  $CI$  1,04-4,16), а после 45 - генотипа -627\*С/\*С и аллеля -627\*С ( $OR=3,28$ ,  $CI$  1,3-8,29 и  $OR=3,16$ ,  $CI$  1,45-6,88, соответственно).

**Ключевые слова:** инфаркт миокарда, интерлейкин-10, генетический полиморфизм.

## Введение

Данные многочисленных исследований свидетельствуют в пользу непосредственного участия локального и системного воспаления в инициации и прогрессировании атеросклероза и его осложнений [1, 2, 3]. В связи с этим, для поиска маркеров повышенного риска ишемической болезни сердца значительный интерес представляет изучение полиморфизма генов системы цитокинов, которые обеспечивают ауто- и паракринную регуляцию воспаления и иммунного ответа.

Интерлейкин 10 (IL-10) - иммунорегуляторный цитокин с широким спектром действия, продуцируемый Т- и В-лимфоцитами, активированными макрофагами, тучными клетками [4]. Противовоспалительная активность IL-10 проявляется способностью снижать продукцию провоспалительных цитокинов, усилить продукцию антагониста рецептора IL-10 и уменьшать адгезию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам [5].

Ген IL-10 расположен на длинном плече хромосомы 1 (1q31-q32) и содержит 5 экзонов [6]. К настоящему времени идентифицировано более 100 однонуклеотидных замен в области гена IL-10. При анализе трех полиморфных маркеров, локализованных в промоторной области (-1082G/A, -592C/A и -627C/A) с содержанием IL-10 в плазме крови, обнаружено, что аллель -627\*С и гаплотип -1117\*G/-854\*С/-627\*С связаны с более высоким, а аллель -627\*А и гаплотип -1117\*А/-854\*Т/-627\*С с более низким уровнем IL-10 [7, 8]. Поиск ассоциаций полиморфизма -627С/А гена IL-10 с различными заболеваниями показал, что аллель -627\*А также ассоциирован с бронхиальной астмой, развитием алкогольного гепатита у жителей Великобритании, а аллель -627\*С - с поражением почек у больных с системной красной волчанкой [8, 9, 10].

Цель настоящего исследования заключалась в анализе ассоциаций полиморфного маркера -627С/А гена IL-10 с риском сердечно-сосудистых заболеваний.

## Материал и методы

Группа больных была сформирована из 115 мужчин, перенесших ИМ в возрасте от 26 до 55 лет. Все пациенты были татарами по этни-

Я. Р. Тимашева - аспирант; Г. Х. Тулякова - аспирант;

Т. Р. Насибуллин - к. м. н.;

А. Н. Закирова - профессор;

И. М. Карамова - к. м. н.;

О. Е. Мустафина - профессор.

ческой принадлежности, не родственными между собой, без сахарного диабета и сопутствующих хронических заболеваний. Все больные обследованы на базе республиканского кардиологического диспансера (г. Уфа).

Контрольная группа состояла из 141 человека (мужского пола, татары по этнической принадлежности) в возрасте от 26 до 66 лет, не родственные между собой, без признаков сердечно-сосудистых заболеваний.

Материалом для исследования служили образцы ДНК, полученные методом фенольно-хлороформной экстракции из цельной венозной крови [11].

Идентификацию аллелей полиморфного маркера -627C/A гена IL-10 проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР); последовательности праймеров, условия ПЦР и процедура анализа продуктов амплификации соответствовали таковым, приведенным ранее [8].

При попарном сравнении по частотам генотипов и аллелей групп больных и здоровых лиц использовался точный критерий Фишера [12]. Относительный риск рассчитывали как соотношение шансов (odds ratio, OR) [13].

## Результаты и обсуждение

В контрольной группе наиболее часто встречается генотип -627\*С/\*С и аллель -627\*С (64,5% и 78,01%, соответственно), что соответствует результатам анализа данного полиморфного маркера в европейских популяциях [14, 15], табл. 1. Группа больных, перенесших ИМ, по частотам генотипов и аллелей не отличается от контрольной группы. Как показал анализ литературных данных, другие исследования, выполненные в Англии, Франции, Германии и

России, также не выявили связи полиморфизма -627C/A гена IL-10 с ИМ [14, 15, 16].

Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей представлены в табл. 1. В группе больных, перенесших ИМ, и в контрольной группе нами не выявлено статистически значимых различий. Однако, рассматривая результаты исследования с учетом возраста манифестации заболевания, мы обнаружили значимые различия по частотам генотипов как в контрольной группе, так и в группе больных (табл. 2). Как оказалось, среди больных, перенесших инфаркт до 45 лет, в отличие от лиц без признаков ССЗ того же возраста, повышена частота генотипа -627\*С/\*А (37,93% и 22,73% соответственно,  $P=0,047$ ). Среди больных с манифестацией заболевания в 45 лет и позже, по сравнению с контрольной группой, наблюдается значительное повышение частоты генотипа -627\*С/\*С (75,44% и 48,39% соответственно,  $P=0,018$ ) и аллеля -627\*С (87,72% и 69,35% соответственно,  $P=0,004$ ).

Таким образом, в возрасте до 45 лет риск ИМ повышен у носителей генотипа -627\*С/\*А (OR=2,08, CI 1,04-4,16), а после 45 - генотипа -627\*С/\*С (OR=3,28, CI 1,3-8,29) и аллеля -627\*С (OR=3,16, CI 1,45-6,88).

IL-10 рассматривается как один из протективных факторов в отношении развития атеросклероза. Данный медиатор способствует пролиферации гладкомышечных клеток и фиброзу в атеросклеротической бляшке, усиливая процессы заживления [17]. Полагают, что его благоприятное влияние обусловлено прежде всего локальной продукцией IL-10 в сосудистой стенке, тогда как высокий уровень IL-10 в плазме может сопровождаться иммуностиму-

Таблица 1. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма -627C/A гена IL-10 в контрольных группах и группах больных, перенесших инфаркт миокарда

Параметры	Контроль		Больные ИМ		P	
	n	$p \pm s_p$ (%) CI	n	$p \pm s_p$ (%) CI		
Генотип	*C/*C	91	64,54±4,03 56,05–72,41	74	64,35±4,47 54,88–73,06	1
	*C/*A	38	26,95±3,74 19,83–35,07	36	31,3±4,32 22,98–40,62	0,489
	*A/*A	12	8,51±2,35 4,48–14,39	5	4,35±1,9 1,43–9,85	0,215
Аллель	*C	220	78,01±2,47 72,72–82,71	184	80±2,64 74,24–84,97	0,663
	*A	62	21,99±2,47 17,29–27,28	46	20±2,64 15,03–25,76	0,663

Примечание. n – объем выборки;

$p \pm s_p$  – частота встречаемости и статистическая ошибка частоты;

(CI) – 95% доверительный интервал;

ИМ – группа пациентов, перенесших инфаркт миокарда.

Таблица 2. Распределение частот генотипов и аллелей -627С/А полиморфизма гена IL-10 в группах больных, перенесших ИМ, и контрольной группе с учетом возраста манифестации заболевания

Параметры	До 45 лет				P	45 лет и старше				P	
	Контроль		ИМ			Контроль		ИМ			
	n	p ± sp(%)	n	p ± sp(%)		n	p ± sp(%)	n	p ± sp(%)		
Генотип	*С*С	76	69,09±4,41 59,57-77,55	31	53,45±6,55 39,87-66,66	0,063	15	48,39±8,98 30,15-66,94	43	75,44±5,7 62,24-85,87	0,018
	*С*А	25	22,73±4 15,28-31,7	22	37,93±6,37 25,51-51,63	0,047	13	41,94±8,86 24,55-60,92	14	24,56±5,7 14,13-37,76	0,146
	*А*А	9	8,18±2,61 3,81-14,96	5	8,62±3,69 2,86-18,98	1	3	9,68±5,31 2,04-25,75	0	-	0,308
Алель	*С	177	80,45±2,67 74,59-85,48	84	72,41±4,15 63,34-80,3	0,1	43	69,35±5,86 56,35-80,44	100	87,72±3,07 80,25-93,12	0,004
	*А	43	19,55±2,67 14,52-25,41	32	27,59±4,15 19,7-36,66	0,1	19	30,65±5,86 19,56-43,65	14	12,28±3,07 6,88-19,75	0,004

лирующими эффектами [18]. Кроме того, IL-10 может выступать в качестве индуктора апоптоза в атеросклеротической бляшке, что может приводить к ее разрыву и последующему тромбообразованию [19].

Согласно результатам нашего исследования, полиморфизм гена IL-10, связанный с повышением уровня IL-10 в плазме крови, ассоциирован с развитием ИМ в возрасте 45 лет и старше.

## Литература

- Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndrome. *Circulation* 1995; 91: 2844-50.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
- Van der Wal A.C., Das P.K., Bentz van de Berg D., van der Loos C.M., Becker A.E. Atherosclerotic lesions in humans: in situ immunophenotypic analysis suggesting an immune mediated response. *Lab Invest* 1989; 61(2): 166-170.
- Moore K., O'Garra A., de Waal Malefyt R., Vieira P., Mosmann T.R. Interleukin 10. *Ann Rev Immunol* 1993; 11: 165-190.
- de Waal Malefyt R., Abrams J., Bennett B., Figdor C.G., de Vries J.E. Interleukin10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991; 174(5): 1209-20.
- Spits H., De Waal Malefyt R. Functional characterization of human IL-10. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1992; 99(1): 8-15.
- Crawley E., Kay R., Sillibourne J., Patel P., Hutchinson I., Woo P. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42(6): 1101-9.
- Lim S., Crawley E., Woo P., Barnes P.J. Haplotype associated with low interleukin-10 production in patients with severe asthma. *Lancet* 1998; 352(9122): 113-9.
- Grove J., Daly A. K., Bassendine M. F., Gilvarry E., Day C.P. Interleukin 10 promoter region polymorphisms and susceptibility to advanced alcoholic liver disease. *Gut* 2000; 46(4): 540-5.
- Lazarus M., Hajeer A.H., Turner D. et al. Genetic variation

in the interleukin-10 gene promoter and systemic lupus erythematosus *J Rheumatol* 1997; 24(12): 2314-7.

11. Johns M.B., Paulus-Thomas J.E. Purification of human genomic DNA from whole blood using proteinase K treatment followed by phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1989; 6: 539-45.

12. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М: Наука, 1991.

13. Bland J.M., Altman D.G. Statistics notes. The odds ratio. *BMJ* 2000; 320(7247): 1468.

14. Donger C., Georges J.L., Nicaud V. et al. New polymorphisms in the interleukin-10 gene - relationships to myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 2001; 31(1): 9-14.

15. Koch W., Kastrati A., Bottiger C. Mehili J., von Beckerath N., Schomig A. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001; 159(1): 137-44.

16. Коленков В.И., Ракова И.Г., Максимов В.Н., Воевода М.И. Аллельный полиморфизм генов про- и противовоспалительных цитокинов при инфаркте миокарда в европеоидной популяции мужчин. *Бюллетень СО РАМН* 2006; 2(120): 56-62.

17. Pinderski-Oslund L.J., Hedrick C.C., Olvera T. et al. Interleukin-10 blocks atherosclerotic events in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(12): 2847-53.

18. Tedgui A., Mallat Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. *Circ Res* 2001; 88(9): 877-87.

19. von der Thusen J.H., van Vlijmen B.J., Hoeven R.C., et al. Induction of atherosclerotic plaque rupture in apolipoprotein E-/- mice after adenovirus-mediated transfer of p53. *Circulation* 2002; 105: 2064-70.