

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 575:616.12-008.331.1

Генетический полиморфизм генов цитокинов системы воспаления и состояние сосудистой стенки у больных артериальной гипертензией

Л. О. Минушкина¹, О. Ю. Асейчева¹, М. С. Кочкина¹,
А. Г. Никитин³, Д. А. Затейщиков^{1,2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница № 51 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

Контактная информация:

Лариса Олеговна Минушкина, ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Маршала Тимошенко ул., д. 19, с. 1 А, Москва, 121359, Россия
E-mail: minushkina@mail.ru

*Статья поступила в редакцию
01.08.16 и принята к печати 23.01.17.*

Резюме

Цель исследования — изучить ассоциацию полиморфных маркеров генов С-реактивного белка (CRP), интерлейкина 10 (IL10), интерлейкина 6 (IL6), лимфотоксина альфа (LTA) и фактора некроза опухоли (TNFA) с изменениями артериальной ригидности у больных артериальной гипертензией (АГ). **Материалы и методы.** Обследовано 130 больных с АГ (64 (49,3 %) мужчин и 66 (50,7 %) женщин), средний возраст $63,7 \pm 12,87$ года. Толщину комплекса интима-медиа измеряли по методике, предложенной Р. Pignolli. Жесткость артерий оценивалась посредством измерения скорости пульсовой волны (СПВ) на сегменте сонная–бедренная и сонная–лучевая артерии. Центральное пульсовое давление (ПД) в аорте рассчитывалось с использованием контурного анализа пульсовой кривой. **Результаты.** Ассоциации полиморфных маркеров А (-3872)G, G (-2667)C, А (-5237)G гена CRP, G (-1082)A гена IL10, С (-174)G гена IL6, и А (-308)G гена TNFA со скоростью распространения пульсовой волны, ПД в аорте, наличием атеросклеротических бляшек сонных артерий выявлено не было. В группе больных с ПД в аорте больше 50 мм рт. ст. доля носителей генотипа AA полиморфного маркера C804A гена LTA была больше ($p = 0,037$). У носителей генотипа AA СПВ на сегменте сонная–бедренная артерия оказалась существенно выше по сравнению с носителями генотипа CC (13,4 и 11,9 м/с, $p = 0,042$), а также у них было более высокое ПД в аорте. Также более высокие показатели ПД в аорте и СПВ были выявлены у носителей генотипа GG полиморфного маркера А (252)G гена LTA. Среди больных с наличием атеросклеротических бляшек сонных артерий было больше носителей генотипа AA полиморфного маркера G (-3014)A гена CRP ($p = 0,031$). **Выводы.** Показано, что полиморфизм гена CRP ассоциирован с развитием каротидного атеросклероза и увеличением центрального ПД, а полиморфизм гена лимфотоксина альфа — с увеличением ригидности аорты и крупных артерий у больных АГ высокого риска. Эти данные подтверждают

положение о вовлеченности провоспалительных цитокинов в процессы развития атеросклероза и формирования эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: артериальная гипертензия; генетический полиморфизм, воспаление, сосудистая ригидность, ген С-реактивного белка, ген лимфотоксина альфа

Для цитирования: Минушкина Л. О., Асейчева О. Ю., Кочкина М. С., Никитин А. Г., Затеищиков Д. А. Генетический полиморфизм генов цитокинов системы воспаления и состояние сосудистой стенки у больных артериальной гипертензией. Артериальная гипертензия. 2017;23(2):103–111. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-2-103-111

Genetic polymorphism of the inflammatory cytokine genes and arterial wall properties in hypertensive patients

L. O. Minushkina¹, O. Yu. Aseycheva¹, M. S. Kochkina¹,
A. G. Nikitin³, D. A. Zateyshchikov^{1,2,3}

¹ Central State Medical Academy of Department
of Presidential Affairs, Moscow, Russia

² City Clinical Hospital № 51, Moscow, Russia

³ Federal Scientific Clinical Center of Specialized Methods
Medical Care and Medical Technology, Moscow, Russia

Corresponding author:

Larisa O. Minushkina, Central State
Medical Academy of Department
of Presidential Affairs, 19–1A Marshal
Timoshenko, Moscow, 121359 Russia
E-mail: minushkina@mail.ru

Received 1 August 2016;
accepted 23 January 2017.

Abstract

Objective. To elucidate the association between polymorphic markers of the genes of C-reactive protein (CRP), interleukin 10 (IL10), interleukin 6 (IL6), lymphotoxin alpha (LTA) and tumor necrosis factor (TNFA) and changes of arterial stiffness in hypertensive patients. **Design and methods.** The study included 130 patients with hypertension (HTN) (64 (49,3 %) men and 66 (50,7%) women), average age $63,7 \pm 12,87$ years. The intima-media thickness was measured by the method proposed by P. Pignolli. The arterial stiffness was assessed by the carotid-femoral and carotid-radial pulse wave velocity (PWV). Central aortic pulse pressure (PP) was calculated using pulse contour analysis. **Results.** An association of polymorphic markers of A (-3872)G, G (-2667)C, A (-5237)G CRP gene, G (-1082)A gene IL10, C (-174)G gene IL6, and A (-308)G gene TNFA with pulse wave velocity, PP in the aorta, the presence of atherosclerotic plaques of carotid arteries was found. Among patients with aortic PP > 50 mmHg the frequency of AA genotype carriers of polymorphic marker C804A LTA gene was higher ($p = 0,037$). Carriers AA genotype had a significantly greater carotid-femoral PWV as compared with native CC genotype (13,4 and 11,9 m/s, $p = 0,042$) and higher PP in the aorta. Also, higher PP and aortic PWV were found in carriers of GG genotype of A (252)G LTA gene. Among patients with the presence of atherosclerotic plaques of carotid arteries the frequency of AA genotype of the G (-3014)A CRP gene was higher ($p = 0,031$). **Conclusion.** Thus, we have shown that CRP gene polymorphism is associated with the development of carotid atherosclerosis and increased central PP, while lymphotoxin alpha gene polymorphism is associated with the increase in arterial stiffness in high risk hypertensive patients. Our data confirm the involvement of pro-inflammatory cytokines in the development of atherosclerosis and endothelial dysfunction.

Key words: hypertension, genetic polymorphism, inflammation, arterial stiffness, C-reactive protein gene, lymphotoxin-alpha gene

For citation: Minushkina LO, Aseycheva OYu, Kochkina MS, Nikitin AG, Zateyshchikov DA. Genetic polymorphism of the inflammatory cytokine genes and arterial wall properties in hypertensive patients. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(2): doi:10.18705/1607-419X-2017-23-2-103-111

Введение

Внутрисосудистое воспаление в настоящее время рассматривается как один из возможных патогенетических механизмов формирования атеросклероза. Многие провоспалительные цитокины ассоциированы с развитием эндотелиальной дисфункции и увеличением ригидности сосудистой стенки. Так, уровень С-реактивного белка ассоциирован с тяжестью атеросклеротического процесса. Показано, что его избыток подавляет экспрессию NO-синтазы и, значит, может способствовать формированию эндотелиальной дисфункции [1]. Кроме того, провоспалительные цитокины могут оказывать влияние и на функционирование других нейрогормональных систем, участвующих в регуляции функции эндотелия. Интерлейкин-10 также способствует экспрессии NO-синтазы [2]. Интерлейкин-6 не только стимулирует дифференцировку В-лимфоцитов, участвует в регуляции противоопухолевой защиты, развитии пирогенной реакции и стимулирует синтез белков острой фазы, но и является мощным индуктором факторов роста. Выявлена ассоциация между экспрессией интерлейкина-6 и активностью ангиотензина II [3]. Уровень экспрессии провоспалительных цитокинов во многом определяется генетически. В связи с этим **цель нашего исследования** — изучить ассоциацию полиморфных маркеров G (-3014)A, A (-3872)G, G (-2667)C, A (-5237)G гена С-реактивного белка (CRP), G (-1082)A гена интерлейкина-10 (IL10), C (-174)G гена интерлейкина-6 (IL6), A (252)G и C804A гена лимфотоксина альфа (LTA) и A (-308)G гена фактора некроза опухоли (TNFA) с изменениями артериальной ригидности у больных артериальной гипертензией (АГ).

Материалы и методы

Обследовано 130 больных с АГ высокого риска (64 (49,3%) мужчин и 66 (50,7%) женщин), средний возраст $63,7 \pm 12,87$ года. 108 (80,6%) больных страдали ишемической болезнью сердца, 29 (21,6%) — сахарным диабетом 2-го типа, 49 больных (36,6%) курили, 12 (9,0%) имели в анамнезе инсульт, 34 (25,4%) — инфаркт миокарда. У 56% больных отмечена в анамнезе дислипидемия. Все пациенты получали антигипертензивную терапию. Средние значения систолического и диастолического артериального давления в момент проведения исследования артериальной жесткости составили $124,1 \pm 3,14$ и $74,6 \pm 1,88$ мм рт. ст. соответственно, 87% больных получали ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, 11% — блокаторы рецепторов ангиотензина, 44% — тиазидные или тиазидоподобные диуретики, 26% — антагонисты

кальция, 13% — препараты центрального действия, 76% — бета-адреноблокаторы. Гиполипидемическую терапию статинами получал 61% больных.

Всем пациентам были проведены цветное дуплексное сканирование сонных артерий и исследование ригидности артерий.

Цветное дуплексное сканирование экстракраниальных отделов брахиоцефальных артерий проводили в положении больного лежа на спине, с головой, запрокинутой назад и повернутой на 45° в сторону, противоположную обследуемой артерии. Толщину комплекса интима-медиа измеряли по методике, предложенной P. Pignolli [4]. Для определения степени атеросклеротического поражения сонных артерий проводили локацию в продольных и поперечных плоскостях правой и левой сонных артерий на протяжении 40 мм проксимальнее и 30 мм дистальнее бифуркаций, включая внутренние и наружные сонные артерии. Атеросклеротической бляшкой считали структуру, вдающуюся в просвет сосуда, с толщиной более 1,2 мм.

Жесткость артерий (сфигмография) оценивалась посредством измерения скорости пульсовой волны (СПВ) на сегменте сонная–бедренная и сонная–лучевая артерии. Исследование проводили на автоматизированной компьютерной системе Complior Colson (Франция) по стандартной методике. Исследование проводилось в положении больного лежа на спине с головой, повернутой в сторону, противоположную обследуемой артерии. Пульсовая волна регистрировалась в трех точках: на сонной, лучевой и бедренной артериях. Датчики устанавливались и фиксировались в месте оптимальной пульсации под визуальным контролем сфигмограммы на мониторе прибора. Расстояние между точками измерялось сантиметровой лентой: от датчика сонной артерии до яремной вырезки (L1), от яремной вырезки до датчика лучевой артерии (L2), от яремной вырезки до датчика бедренной артерии (L3). СПВ рассчитывалась автоматически, исходя из отношения расстояния ($L1 + L2 + L3$) и времени задержки пульсовой волны. Для анализа использовалось усредненное значение СПВ на сегменте сонная–бедренная и СПВ на сегменте сонная–лучевая из 8–10 достоверных измерений. Центральное пульсовое давление (ПД) в аорте рассчитывалось с использованием контурного анализа пульсовой кривой. Ограничениями для применения данного метода являлись в основном фибрилляция предсердий и выраженное абдоминальное ожирение.

Исследование полиморфизма генов проводилось в лаборатории молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии государственного на-

учного центра «ГосНИИгенетика». Венозная кровь забиралась в пробирки типа вакутейнер с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА), замораживалась при -20°C . Выделение геномной ДНК проводили методом фенолхлороформной экстракции. Амплификацию полиморфных участков генов проводили на амплификаторе РНС-2 («Techne», Великобритания) с помощью полимеразной цепной реакции. Агарозные гели окрашивали бромистым этидием, полиакриламидные — нитратом серебра. Термостабильную ДНК-полимеразу Taq, трифосфаты и рестриктазы MboI и PstI получали от фирмы «Ферментас» (Вильнюс, Литва), рестриктазу BstDEI — от ООО «Сибэнзим» (Новосибирск, Россия). Олигонуклеотидные праймеры синтезированы в ООО «Синтол» (Москва, Россия). Методика определения аллелей полиморфных маркеров была описана нами ранее [5].

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью статистического пакета программ SPSS 17.0. Для количественных переменных рассчитывали средние величины и их ошибки. Оценку значимости различий проводили для параметрических величин с помощью теста ANOVA и критерия Стьюдента, для непараметрических — с помощью теста Манна–Уитни или критерия Краскела–Уоллиса.

Дискретные величины сравнивали по критерию χ^2 Пирсона. Когда ожидаемое число наблюдений в любой из клеток таблицы сопряженности было менее 5, использовали точный критерий Фишера, указывали величину p для двухстороннего его варианта. Правильность распределения частот генотипов определялась соответствием равновесию Харди–Вайнберга ($p_i^2 + 2p_i p_j + p_j^2 = 1$) и рассчитывалась при помощи программного калькулятора Hardy–Weinberg equilibrium calculator (<http://www.oege.org/software/hardy-weinberg.html>). Для всех видов анализа статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Исследование одобрено Этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента Российской Федерации (протокол № 10 от 20.11.2013). Исследование не содержит конфликта интересов.

Результаты

Частота генотипов выбранных нами полиморфных маркеров в обследованной группе больных представлена в таблице 1. Распределение частот генотипов для всех генов не отличалось от равновесия Харди–Вайнберга.

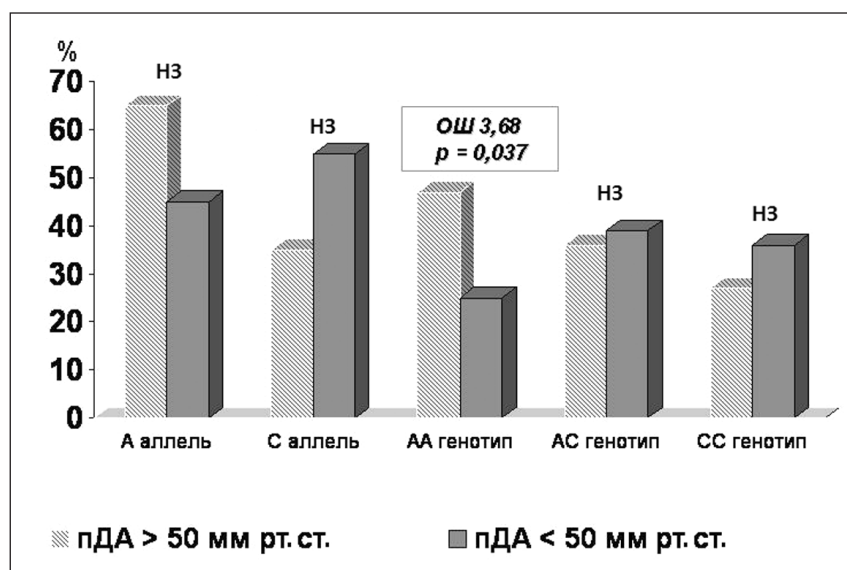
Таблица 1

ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ ИЗУЧЕННЫХ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ

Ген-кандидат	Полиморфный маркер	Кол-во генотипированных больных	Распределение частот генотипов	Соответствие уравнению Харди–Вайнберга χ^2 , (p)
Ген С-реактивного белка (CRP)	C (3872)T, rs1205	116	CC-25 (21,6%), CT 65 (56,0%), TT-26 (22,4%)	1,69 (нз)
	A (5237)G, rs2808630	113	AA-68 (60,2%), AG-40 (35,4%), GG-5 (4,4%)	0,08 (нз)
	C (2667)G, rs1800947	113	GG-83 (73,5%), CG-30 (26,5%)	2,64 (нз)
	G (3014)A, rs1130864	112	GG-51 (45,5%), GA-48 (42,9%), AA-13 (11,6%)	0,11 (нз)
Ген интерлейкина-10 (IL-10)	G (-1082)A, rs1800896	130	GG-76 (58,5%) GA-43 (33,1%), AA-11 (8,5%)	1,81 (нз)
Ген интерлейкина-6 (IL-6)	G (-174)C, rs1800795	129	CC-32 (24,8%), CG-65 (50,4%), GG-32 (24,8%)	0,01 (нз)
Ген фактора некроза опухоли альфа (TNF)	G (-308)A, rs1800629	114	GG-78 (68,4%), AG-32 (28,1%), AA-4 (3,5%)	0,101 (нз)
Ген лимфотоксина альфа (LTA)	A (252)G, rs909253	113	AA-57 (50,4%), GA-47 (41,6%), GG-9 (8,0%)	6,62 ($p < 0,05$)
Ген лимфотоксина альфа (LTA)	C (804)A, rs1041981	96	AA-37 (38,5%), AC-40 (41,7%), CC-19 (19,8%)	1,783 (нз)

Примечание: нз — различия незначимы.

Рисунок 1. Частота аллелей и генотипов полиморфного маркера С804 А гена LTA у больных с различным пульсовым давлением в аорте



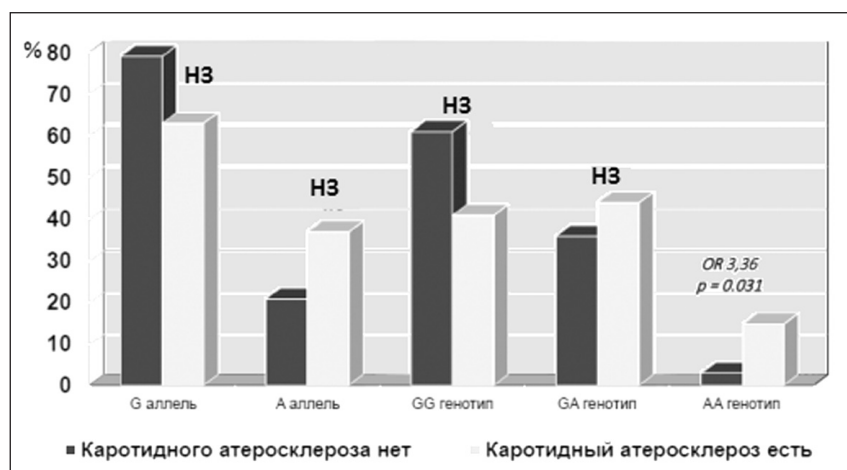
Примечание: LTA — ген лимфотоксина альфа; ОШ — отношение шансов; нз — различия незначимы; пДА — пульсовое давление в аорте.

Было проведено сравнение СПВ на сегментах сонная–бедренная и сонная–лучевая артерии, толщины комплекса интима-медиа и ПД в аорте у носителей разных генотипов изучаемых нами полиморфных маркеров. Кроме того, для оценки ассоциации полиморфизма генов-кандидатов с уровнем центрального ПД больные были распределены в группы — с ПД в аорте более и менее 50 мм рт. ст. (по медиане показателя). Частоты аллелей и генотипов генов-кандидатов сравнивались в группах с ПД в аорте выше и ниже 50 мм рт. ст., а также в группах больных с наличием и отсутствием атеросклеротических бляшек в сонных артериях. Ассоциации полиморфных маркеров А (-3872)G, G (-2667)C,

А (-5237)G гена CRP, G (-1082)A гена IL10, C (-174)G гена IL6, и А (-308)G гена TNFA со скоростью распространения пульсовой волны, ПД в аорте, наличием атеросклеротических бляшек сонных артерий выявлено не было. Для двух полиморфных маркеров гена LTA и одного полиморфизма гена CRP получены ассоциации с параметрами сосудистой ригидности. Результаты сравнения представлены в таблице 2 и на рисунках 1 и 2.

Для гена LTA выявлены различия в частотах генотипов полиморфного маркера С804А у больных с нормальным и увеличенным ПД в аорте. В группе больных с ПД в аорте больше 50 мм рт. ст. доля носителей генотипа АА (46,7%) оказалась выше

Рисунок 2. Частота аллелей и генотипов полиморфного маркера G (3014)A гена CRP у больных с наличием и отсутствием каротидного атеросклероза



Примечание: нз — различия незначимы; OR — odds ratio.

ПАРАМЕТРЫ СОСУДИСТОЙ РИГИДНОСТИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ГЕНОТИПАМИ
ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ C804A ГЕНА LTA И ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА G (3014)A ГЕНА CRP

Параметр				Р
Полиморфный маркер C804A и A (252)G гена LTA				
	Генотип AA	Генотип AC	Генотип CC	
СПВ сонная–бедренная, м/с	13,4 ± 4,09	12,4 ± 4,48	11,9 ± 2,32	0,042
СПВ сонная–лучевая, м/с	11,8 ± 1,02	13,2 ± 0,44	12,4 ± 0,43	нз
ПД в аорте, мм рт. ст.	57,0 ± 4,17	49,5 ± 1,80	45,0 ± 2,42	0,031
ТИМ справа, мм	0,91 ± 0,023	0,85 ± 0,026	0,85 ± 0,041	нз
ТИМ слева, мм	0,94 ± 0,022	0,91 ± 0,029	0,85 ± 0,024	нз
Полиморфный маркер A (252)G гена LTA				
	Генотип AA	Генотип AG	Генотип GG	
СПВ сонная–бедренная, м/с	10,6 ± 0,64	12,1 ± 0,76	14,6 ± 0,74	0,023
СПВ сонная–лучевая, м/с	11,9 ± 0,53	12,4 ± 0,44	13,3 ± 0,61	нз
ПД в аорте, мм рт. ст.	46,5 ± 2,48	49,2 ± 3,71	53,5 ± 2,07	0,024
ТИМ справа, мм	0,89 ± 0,029	0,88 ± 0,029	0,93 ± 0,027	нз
ТИМ слева, мм	0,89 ± 0,029	0,86 ± 0,031	0,85 ± 0,030	нз
Полиморфный маркер G (3014)A гена CRP				
	Генотип GG	Генотип GA	Генотип AA	
СПВ сонная–бедренная, м/с	11,5 ± 0,77	12,6 ± 0,52	14,6 ± 1,09	нз
СПВ сонная–лучевая, м/с	13,2 ± 0,49	12,4 ± 0,36	12,2 ± 0,67	нз
ПД в аорте, мм рт. ст.	44,5 ± 2,05	49,1 ± 2,14	54,6 ± 5,48	0,048
ТИМ справа, мм	0,87 ± 0,019	0,88 ± 0,029	0,92 ± 0,054	нз
ТИМ слева, мм	0,92 ± 0,022	0,93 ± 0,027	0,95 ± 0,051	нз

Примечание: СПВ — скорость пульсовой волны; ПД — пульсовое давление; ТИМ — толщина интима-медиа; LTA — ген лимфотоксина альфа; CRP — ген С-реактивного белка. Сравнение проводилось методом Краскела–Уоллиса; нз — различия незначимы.

по сравнению с группой больных с нормальным ПД в аорте (24,5%; $p = 0,037$) (рис. 1).

У носителей генотипа AA СПВ на сегменте сонная–бедренная артерия была существенно выше по сравнению с носителями генотипа CC (13,4 и 11,9 м/с, $p = 0,042$). ПД в аорте также оказалось значимо выше у носителей генотипа AA (табл. 2).

Также более высокое ПД в аорте и СПВ были выявлены у носителей генотипа GG полиморфного маркера A (252)G гена LTA (табл. 2).

Среди больных с наличием атеросклеротических бляшек сонных артерий оказалось больше носителей генотипа AA (14,3%) полиморфного маркера G (-3014)A гена CRP, по сравнению с больными без каротидного атеросклероза (3,2%; $p = 0,031$) (рис. 2). У носителей генотипа AA установлены более высокие значения ПД в аорте.

Обсуждение

Из всех изученных нами генов кандидатов значимые ассоциации с параметрами сосудистой ригидности и признаками наличия атеросклероза сонных артерий были обнаружены только для двух генов — гена LTA и CRP. Лимфотоксин альфа —

это растворимый протеин, который секретируется активированными лимфоцитами и участвует в регуляции иммунного ответа. Этот белок способен связываться с рецепторами фактора некроза опухоли 1-го и 2-го типов. По своему строению лимфотоксин альфа на 35–50% гомологичен фактору некроза опухоли. Лимфотоксин альфа участвует в процессах противоопухолевой защиты. Он также является одним из важных регуляторов липидного обмена, и повышение его экспрессии вызывает развитие гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии. Показано, что при инфузии лимфотоксина в эндотелии активируются процессы клеточной адгезии и хемоаттракции. Увеличение активности лимфотоксина приводит к повышенной экспрессии фактора некроза опухоли, Е-селектина, молекул клеточной адгезии (VCAM1), а также протеина хемоаттракции моноцитов (MCP1) [6]. Ген LTA картирован в 6-й хромосоме. Полиморфные маркеры этого гена ассоциированы с ранним развитием инфаркта миокарда и острого коронарного синдрома. Такая ассоциация была показана с полиморфными маркерами C (804)A и A (252)G в европейской [7] и азиатской популяции [8]. В большом исследовании с использованием мате-

риала 1500 аутопсий было показано, что генотип AA полиморфного маркера C (804)A ассоциирован с увеличением риска субклинического поражения коронарных артерий [9]. Носительство генотипа GG полиморфного маркера A (252)G ассоциировано с высоким уровнем С-реактивного белка [10], особенно в составе гаплотипа с геном CRP. Выявлена также ассоциация маркера A (252)G с развитием ишемического инсульта у лиц без АГ [11]. По данным одного из исследований у носителей генотипа GG выявлена несколько большая толщина интима-медиа сонных артерий, однако значимой ассоциацией становилась лишь при рассмотрении гаплотипов генов LTA, MTHFR и ACE [12]. Также ассоциация с риском ишемического инсульта была показана в индийской популяции. Полиморфизм 252 A/G ассоциирован с болезнью мелких сосудов [13]. По данным метаанализа 6 исследований с включением более 3500 больных полиморфный маркер 252 A/G гена LTA является независимым фактором риска инсульта, в том числе и у больных АГ [11]. Попытки связать развитие гипертонической болезни или АГ беременных с полиморфизмом гена LTA оказались неудачными [14].

В нашем исследовании мы обнаружили ассоциацию генотипа AA полиморфного маркера C (804)A и генотипа GG полиморфного маркера A (252)G гена LTA с увеличением параметров сосудистой жесткости — большей СПВ и повышением центрального давления. Ранее подобного рода данных у больных гипертонической болезнью показано не было.

Кроме того, показана ассоциация полиморфизма гена CRP с наличием каротидного атеросклероза и увеличением ПД в аорте. С-реактивный белок считается важным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний. Имеется много данных о роли С-реактивного белка в патогенезе атеросклеротических повреждений: участие активации комплемента и моноцитов, стимулирование экспрессии цитокинов и молекул адгезии (sICAM-1, sVCAM-1, E-селектина) на поверхности эндотелия, снижение секреции интерлейкина-10, повышение секреции интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли, связывание и модификация липопротеинов низкой плотности и другое.

Ген CRP картирован в хромосомном регионе 1q21-q23. Известно, что ген CRP экспрессируется в ответ на повышение уровня интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли альфа. В связи с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний изучается 7 полиморфных маркеров, влияющих на экспрессию CRP и уровень С-реактивного белка плазмы, а также 8 основных гаплотипов. Для трех выбранных нами для исследования маркеров

есть данные об ассоциации их генотипов с уровнем циркулирующего С-реактивного белка [15]. Нами ранее было показано, что сочетание редких аллелей полиморфных маркеров G (3014)A, C (3872)T и A (5237)G гена CRP ассоциировано с развитием неблагоприятных исходов у больных ишемической болезнью сердца [16]. На сегодняшний день данные о взаимосвязи между полиморфизмом гена CRP и рисков сердечно-сосудистых событий достаточно противоречивы. Один из недавних метаанализов показал ассоциацию полиморфизма rs2794521 с манифестными формами ишемической болезни сердца [17]. Другой метаанализ показал ассоциацию полиморфного маркера +1059 G/C гена CRP с инфарктом миокарда в белой европейской популяции, но не подтвердил данной связи для афроамериканцев и азиатов [18]. Для мозгового инсульта метаанализ данных по 6 наиболее часто изучаемым маркерам не показал положительной ассоциации, подчеркивается необходимость поиска дополнительных полиморфизмов [19]. Выбранные нами для исследования маркеры нечасто изучаются в связи с сердечно-сосудистыми рисками. Для одного из них (rs1800947) есть исследование, показавшее ассоциацию этого маркера с микрососудистым типом ишемического инсульта [20].

В нескольких исследованиях изучались взаимосвязи полиморфизма гена CRP и параметров сосудистой ригидности. Так, для генотипа CC полиморфного маркера +1444C/T показана ассоциация с каротидным атеросклерозом [21]. В финском исследовании на группе молодых больных ассоциация с каротидным атеросклерозом была показана для гаплотипов гена CRP и гена комплемента [22]. В нашем исследовании для полиморфизма rs1130864 впервые была показана ассоциация с каротидным атеросклерозом, а также повышением ПД в аорте.

Мы анализировали также связь параметров сосудистой жесткости с полиморфизмом генов, кодирующих интерлейкины и фактор некроза опухоли.

Интерлейкин-6 относится к числу наиболее активных цитокинов и опосредует основные реакции иммунного ответа. Функционально интерлейкин-6, по-видимому, опосредует влияние ангиотензина на индукцию генов фиброза [3]. Эти ассоциации позволяют рассматривать ген IL6 как один из возможных генов-кандидатов для развития поражения органов-мишеней при АГ.

Ранее нами была показана значимая ассоциация генотипа GG полиморфного маркера C174G гена IL-6 с развитием гипертрофии левого желудочка у больных АГ [5], однако ассоциации с параметрами сосудистой жесткости показать не удалось.

Интерлейкин-10 является противовоспалительным цитокином и участвует в основном в процессах дифференцировки и регуляции Т-клеточного иммунитета. Однако известна и его роль в регуляции атеросклеротических процессов. Показано также, что у больных с метаболическим синдромом уровень интерлейкина-10 снижен. Известна ассоциация снижения уровня интерлейкина-10 и повышения артериального давления [23]. Ассоциация уровня интерлейкина-10 и регуляции сосудистого тонуса может быть связана с тем, что интерлейкин-10 способствует экспрессии NO-синтазы. Однако в нашем исследовании взаимосвязи между генетическим полиморфизмом гена IL-10 и параметрами сосудистой жесткости не выявлено.

Фактор некроза опухоли — один из наиболее значимых цитокинов, изучаемых в связи с сердечно-сосудистыми рисками. Ген TNFA картирован в хромосомном регионе 6p23-q12. Есть достаточно много данных об ассоциации полиморфного маркера G (-308)A с риском коронарных осложнений. Аллель A этого маркера ассоциирована с высоким риском развития атеросклероза и инфаркта миокарда [24], в особенности у больных сахарным диабетом. Ассоциацию полиморфного маркера G (-308)A гена TNFA с параметрами сосудистой жесткости у больных АГ нам показать не удалось.

Выводы

Таким образом, нами показано, что полиморфизм гена CRP ассоциирован с развитием каротидного атеросклероза и увеличением центрального ПД, а полиморфизм гена лимфотоксина альфа — с увеличением ригидности аорты и крупных артерий у больных АГ высокого риска. Эти данные подтверждают положение о вовлеченности провоспалительных цитокинов в процессы развития атеросклероза и формирования эндотелиальной дисфункции.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Kusche-Vihrog K, Urbanova K, Blanqué A, Wilhelmi M, Schillers H, Kliche K et al. C-reactive protein makes human endothelium stiff and tight. *Hypertension*. 2011;57(2):231–7.
2. Babbitt DM, Kim JS, Forrester SJ, Brown MD, Park JY. Effect of Interleukin-10 and laminar shear stress on endothelial nitric oxide synthase and nitric oxide in African American human umbilical vein endothelial cells. *Ethn Dis*. 2015;25(4):413–8. doi: 10.18865/ed.25.4.413. PubMed PMID: 26674844; PubMed Central PMCID: PMC4671427
3. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74(6):1399–406.

4. Минушкина Л. О., Чумакова О. С., Селезнева Н. Д., Евдокимова М. А., Осмоловская В. С., Благодатских К. А. и др. Развитие гипертрофии левого желудочка, ассоциированное с генетическим полиморфизмом медиаторов системы воспаления. *Российский кардиологический журнал*. 2014;10(114):23–28. [Minushkina LO, Chumakova OS, Selezneva ND, Evdokimova MA, Osmolovskaya VS, Blagodatskikh KA et al. Left ventricular hypertrophy development, associated with genetic polymorphism of inflammatory mediators. *Russian Journal of Cardiology*. 2014;10(114):23–28. In Russian].
5. Suna S, Sakata Y, Sato H, Mizuno H, Nakatani D, Shimizu M et al. Up-regulation of cell adhesion molecule genes in human endothelial cells stimulated by lymphotoxin alpha: DNA microarray analysis. *J Atheroscler Thromb*. 2008;15(3):160–5.
6. PROCARDIS Consortium. A trio family study showing association of the lymphotoxin-alpha N26(804A) allele with coronary artery disease. *Eur J Hum Genet*. 2004;12(9):770–4.
7. Nakayama T, Soma M, Sato N, Haketa A, Kosuge K, Aoi N et al. An association study in essential hypertension using functional polymorphisms in lymphotoxin-alpha gene. *Am J Hypertens*. 2004;17(11 Pt 1):1045–9.
8. Ikeda S, Tanaka N, Arai T, Chida K, Muramatsu M, Sawabe M. Polymorphisms of LTA, LGALS2, and PSMA6 genes and coronary atherosclerosis: a pathological study of 1503 consecutive autopsy cases. *Atherosclerosis*. 2012;221(2):458–60.
9. Suzuki G, Izumi S, Hakoda M, Takahashi N. LTA 252G allele containing haplotype block is associated with high serum C-reactive protein levels. *Atherosclerosis*. 2004;176(1):91–4.
10. Wang X, Cheng S, Brophy VH, Erlich HA, Mannhalter C, Berger K et al. Stroke SNP Consortium. A meta-analysis of candidate gene polymorphisms and ischemic stroke in 6 study populations: association of lymphotoxin-alpha in nonhypertensive patients. *Stroke*. 2009;40(3):683–95.
11. Yamasaki Y, Katakami N, Sakamoto K, Kaneto H, Matsuhisa M, Sato H et al. Combination of multiple genetic risk factors is synergistically associated with carotid atherosclerosis in Japanese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(11):2445–51.
12. Kumar P, Kumar A, Misra S, Faruq M, Vivekanandhan S, Srivastava AK et al. Association between lymphotoxin alpha (-252 A/G and -804 C/A) gene polymorphisms and risk of stroke in North Indian population: a hospital-based case-control study. *Int J Neurosci*. 2016; 126(12):1127–35. doi:10.3109/00207454.2015.1134527.
13. Lachmeijer AM, Crusius JB, Pals G, Dekker GA, Arngimsson R, ten Kate LP. Polymorphisms in the tumor necrosis factor and lymphotoxin-alpha gene region and preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2001;98(4):612–9.
14. Schumacher W, Cockcroft J, Timpson NJ, McEniery CM, Gallacher J, Rumley A et al. Association between C-reactive protein genotype, circulating levels, and aortic pulse wave velocity. *Hypertension*. 2009;53(2):150–7. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.117622. Epub 2008 Dec 15.
15. Благодатских К. А., Никитин А. Г., Пушков А. А., Благодатских Е. Г., Осмоловская В. С., Асейчева О. Ю. и др. Полиморфные маркеры G2667C, G3014A, C3872T, A5237G гена CRP и генетическая предрасположенность к неблагоприятному течению ишемической болезни сердца у больных, перенесших обострение ишемической болезни сердца. *Медицинская генетика*. 2011;4:3–9. [Blagodatskikh KA, Nikitin AG, Pushkov AA, Blagodatskikh EG, Osmolovskaya VS, Aseycheva OYu et al. Polymorphic markers G2667C, G3014A, C3872T, A5237G of CRP gene and genetic association with unfavorable outcomes of coronary artery disease in patients with history of acute ischemic heart disease. *Medical Genetics*. 2011;4:3–9. In Russian].

16. Hernández-Díaz Y, Tovilla-Zárate CA, Juárez-Rojop I, Baños-González MA, Torres-Hernández ME, López-Narváez ML et al. The role of gene variants of the inflammatory markers CRP and TNF- α in cardiovascular heart disease: systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(8):11958–84.

17. Li CS, Guo BR, Guo Z, Yang J, Zheng HF, Wang AL. Association between C-reactive protein gene +1059 G/C polymorphism and the risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(24):4780–5.

18. González-Giraldo Y, Barreto GE, Fava C, Forero DA. Ischemic stroke and six genetic variants in CRP, EPHX2, FGA, and NOTCH3 genes: a meta-analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2016;25(9):2284–2289. pii: S1052-3057(16)30091-X. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.05.020.

19. Kuhlenbaumer G, Hüge A, Berger K, Kessler C, Voelzke H, Funke H et al. Genetic variants in the C-reactive protein gene are associated with microangiopathic ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2010;30(5):476–82. doi:10.1159/000319021.

20. Liu ZZ, Ding XR, Zheng HG, Zhang G, Wang RM, Kang XX. Study on the association of the CRP gene +1444C/T polymorphism with symptomatic carotid artery stenosis. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2009;26(4):435–8.

21. Jylhävä J, Eklund C, Pessi T, Raitakari OT, Juonala M, Kähönen M et al. Genetics of C-reactive protein and complement factor H have an epistatic effect on carotid artery compliance: the cardiovascular risk in young fins study. *Clin Exp Immunol*. 2009;155(1):53–8. doi:10.1111/j.1365-2249.2008.03752

22. Esposito K, Pontillo A, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Nicoletti G et al. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J Clin Endocr Metab*. 2003;88(3):1055–1058.

23. Sbarsi I, Falcone C, Boiocchi C, Campo I, Zorzetto M, De Silvestri A et al. Inflammation and atherosclerosis: the role of TNF and TNF receptors polymorphisms in coronary artery disease. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2007;20(1):145–54.

Информация об авторах

Минушкина Лариса Олеговна — доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (ФГБУ ДПО ЦГМА УД ПРФ);

Асейчева Ольга Юрьевна — ассистент кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии ФГБУ ДПО ЦГМА УД ПРФ;

Кочкина Марина Станиславовна — ассистент кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии ФГБУ ДПО ЦГМА УД ПРФ;

Никитин Алексей Георгиевич — заведующий лабораторией федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства России (ФГБУ ФНКЦ СВКП МТ ФМБА России);

Затейщиков Дмитрий Александрович — доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии ФГБУ ДПО ЦГМА УД ПРФ, руководитель первичного сосудистого отделения государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 51 Департамента здравоохранения города Москвы», научный сотрудник ФГБУ ФНКЦ СВКП МТ ФМБА России.

Author information

Larisa O. Minushkina, MD, PhD, DSc, Professor, Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs;

Olga Yu. Aseycheva, MD, Assistant, Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs;

Marina S. Kochkina, MD, Assistant, Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs;

Alexey G. Nikitin, MD, Head, Laboratory, Federal Scientific Clinical Center of Specialized Methods Medical Care and Medical Technology;

Dmitry A. Zateyshchikov, MD, PhD, DSc, Professor, Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Head, Angiology Department, City Clinical Hospital № 51, Researcher, Federal Scientific Clinical Center of Specialized Methods Medical Care and Medical Technology.