

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ IL18RAP И IL18R1 АССОЦИИРОВАН С РИСКАМИ РАЗВИТИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА У ПАЦИЕНТОВ СО СТАБИЛЬНОЙ ФОРМОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Понасенко А.В.<sup>1,2</sup>, Цепокина А.В.<sup>1</sup>, Хуторная М.В.<sup>1</sup>, Долгих В.А.<sup>3</sup>, Малышев И.Ю.<sup>4</sup>, Барбараш О.Л.<sup>1</sup>

**Контактная информация:**  
Понасенко Анастасия Валериевна  
ФГБНУ «НИИ КПССЗ»  
Сосновый бульвар, д. 6, Кемерово, Россия,  
650002  
E-mail: ponaav@kemcardio.ru

Статья поступила в редакцию 08.08.2018  
и принята к печати 28.08.2018.

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

<sup>4</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

### Резюме

**Цель:** Оценить вероятность патогенетического влияния полиморфизма генов системы ИЛ-18 (IL18, IL18R1 и IL18RAP) на риск развития инфаркта миокарда у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца.

**Материалы и методы:** Исследование выполнено с включением 260 больных стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС), жителей промышленного региона Западной Сибири. Проведено молекулярно-генетическое тестирование по девяти полиморфным сайтам генов IL18, IL18R1, IL18RAP.

**Результаты:** Определены ассоциации полиморфных сайтов rs13015714 IL18R1 и rs917997 IL18RAP с рисками развития инфаркта миокарда (ОШ =1,95 (95%ДИ =1,06-3,58), p =0,029 и ОШ =2,01 (95%ДИ =1,11-3,64), p=0,018).

**Заключение:** Для подтверждения роли полиморфизма IL18, IL18R1, IL18RAP в патогенезе атеросклероза необходимо проспективное наблюдение за этой группой пациентов с целью выявления случаев манифестации клинических признаков у лиц, имеющих неблагоприятный прогноз.

**Ключевые слова:** атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, воспалительный ответ, ген, IL18, IL18R1, IL18RAP.

*Для цитирования:*

Понасенко А.В., Цепокина А.В., Хуторная М.В., Долгих В.А., Малышев И.Ю., Барбараш О.Л. полиморфизм генов IL18RAP и IL18R1 ассоциирован с рисками развития инфаркта миокарда у пациентов со стабильной формой ишемической болезни сердца. *Трансляционная медицина.* 2018;5(4): 12–22.

# THE POLYMORPHISM OF IL18RAP AND IL18R1 GENES ASSOCIATED WITH RISKS OF THE DEVELOPMENT OF MYOCARDIAL INFARCTION IN PATIENTS WITH STABLE CORONARY ARTERY DISEASE

Ponassenko A.V.<sup>1,2</sup>, Tsepokina A.V.<sup>1</sup>, Khutornaya M.V.<sup>1</sup>, Dolgikh V.A.<sup>3</sup>, Malshev I.Yu.<sup>4</sup>, Barbarash O.L.<sup>1</sup>

**Corresponding author:**  
Anastasia V. Ponassenko  
Kemerovo Cardiology Dispensary  
Sosnoviy blvd., 6  
Kemerovo, Russia, 650002  
E-mail: ponaav@kemcardio.ru

<sup>1</sup> Municipal Budgetary Healthcare Institution Kemerovo Cardiology Dispensary, Kemerovo, Russia

<sup>2</sup> Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

<sup>3</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

<sup>4</sup> A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

Received 08 August 2018; accepted 28 August 2018.

## Abstract

**Objective:** to assess the probability of pathogenic effects OF IL-18 (IL18, IL18R1 and IL18RAP) gene polymorphism on the risk of myocardial infarction in patients with stable coronary heart disease.

**Materials and methods:** the present study was performed with the inclusion of 260 patients with stable coronary heart disease (CHD), residents of the industrial region of Western Siberia. Molecular genetic testing was performed on nine polymorphic sites of il18, IL18R1, IL18RAP genes.

**Results:** associations of polymorphic sites rs13015714 IL18R1 and rs917997 IL18RAP with risks of myocardial infarction were Determined (OR =1.95 (95% CI =1.06-3.58), p=0.029 and OR =2.01 (95% CI =1.11-3.64), p=0.018).

**Conclusion:** to confirm the role of polymorphism IL18, IL18R1, IL18RAP in the pathogenesis of atherosclerosis, prospective monitoring of this group of patients is necessary to identify cases of manifestation of clinical signs in persons with adverse prognosis.

**Key words:** atherosclerosis, coronary heart disease, inflammatory response, gene, IL18, IL18R1, IL18RAP.

*For citation: Ponassenko A.V., Tsepokina A.V., Khutornaya M.V., Dolgikh V.A., Malshev I.Yu., Barbarash O.L. The polymorphism of IL18RAP and IL18R1 genes associated with risks of the development of myocardial infarction in patients with stable coronary artery disease. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2018;5(4): 12–22 pages. (In Russ.)*

## Введение

В последние годы из экспериментальных и эпидемиологических данных появилось множество доказательств того, что интерлейкин-18 (ИЛ-18), участвующий как в врожденном, так и приобретенном иммунном ответе, играет ключевую роль в воспалительном ответе, который способствует развитию атеросклероза и ассоциированных с ним заболеваний [1,2]. Являясь плейотропным провоспалительным цитокином, ИЛ-18 стимулирует продукцию интерферона гамма (IFN $\gamma$ ), фактора некроза опухоли аль-

фа (TNF $\alpha$ ), ИЛ-1, ИЛ-2, молекул адгезии и факторов апоптоза, увеличивает пролиферативную активность Т-лимфоцитов, повышает литическую активность естественных киллеров (НК-клеток) [2]. Еще в 2002 году Gerdes N. с соавторами [3] показали, что повышенная экспрессия ИЛ-18 локализована в атеросклеротической бляшке человека и связана с нестабильностью бляшек. В это же время Blankenberg S. с соавторами показали [4], что базовый уровень циркулирующего ИЛ-18 является прогностическим в отношении увеличения риска сердечно-сосудистой

смерти в проспективном наблюдении за когортой пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) (исследование Athero Gene). Эта прогностическая роль ИЛ-18 была подтверждена также в большой популяции когорты первоначально здоровых людей, включенных в эпидемиологическое исследование инфаркта миокарда (PRIME) [5]. В работе коллектива российских ученых, Зыков М.В. с соавторами [6], выявлена важная роль ИЛ-18 в формировании мультифокального атеросклероза.

С другой стороны, установлено, что в опосредованном MyD88 сигнале, активирующем каскад воспалительной реакции, эффекты ИЛ-18 реализуются через взаимодействие с рецептором, состоящего из вспомогательного белка рецептора ИЛ-18 (IL-18RAP) и белка рецептора ИЛ-18 (IL-18R1) [7]. Рецепторный комплекс IL-18RAP/IL-18R1 образует сигнальную цепь и опосредуют сигнальную трансдукцию, инициированную ИЛ-18 [8]. Показано, что полиморфизм генов IL18RAP и IL-18R1 связан с множеством иммуно-опосредованных заболеваний [9], что позволяет предполагать чрезвычайную важность баланса сигнальных путей ИЛ-18 в связи с активацией врожденного и приобретенного иммунного ответа.

Однако и на сегодняшний день остается неясным, является ли повышение концентрации ИЛ-18 обусловленным наследственностью или является следствием продолжающегося воспалительного процесса, связанного с прогрессированием атеросклероза. В том числе, нет достаточного объема информации о значимости полиморфизма генов, кодирующих ИЛ-18 и рецепторный комплекс IL-18RAP/IL-18R1, при развитии инфаркта миокарда (ИМ).

Исходя из этого, целью настоящего исследования явилась оценка вероятности патогенетического влияния полиморфизма генов системы ИЛ-18 (IL18, IL18R1 и IL18RAP) на риск развития инфаркта миокарда у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца.

## Материалы и методы

### Группа наблюдения

Исследование, проведенное на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, является ретроспективным, одноцентровым. Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г.). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ. Все обследуемые дали добровольное письменное подтверждение

на участие в исследовании, в том числе и на молекулярно-генетическое тестирование. Исследование проводилось по принципу сопоставления «случай-контроль». Диагноз ИБС устанавливали согласно Национальным рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению стабильной стенокардии. При оценке функционального класса стенокардии применяли Канадскую классификацию, для характеристики хронической сердечной недостаточности использовали классификацию Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA). Группу исследования составили 260 пациентов с диагнозом стабильная ишемическая болезнь сердца, подтвержденным клиническими, анамнестическими и инструментальными (коронарография, стеноз коронарных артерий более 50%) методами исследования. В качестве группы «случай» оценивались параметры, характеризующие фенотип пациентов со стабильной ИБС и наличием в анамнезе как минимум одного случая установленного ИМ. В качестве группы «контроль» использовали данные, характеризующие фенотип пациентов из общей выборки обследования, но без случаев ИМ в анамнезе. Все участники исследования принадлежали к русскому этносу и проживали на территории Западной Сибири (Кемеровская область, РФ) не менее чем в двух поколениях. Средний возраст пациентов составил 58 (54; 64) лет. Описательные данные группы наблюдения представлены в табл. 1.

В анамнезе ИМ установлен у 70% среди всех лиц обследуемой выборки. Определено, что в 83,5% случаев пациенты с постинфарктным кардиосклерозом принадлежали к мужскому полу (152 против 30 женщин). Тем не менее, статистической разницы в количестве лиц, перенесших ИМ, по половому признаку не определено (72,4% от всех мужчин и 60,0% от всех обследованных женщин,  $p=0,12$ ).

В целом, не обнаружено статистически значимой разницы ( $p=0,82$ ) в частоте встречаемости ИМ у лиц, принадлежащих к разным возрастным категориям. Так, у лиц моложе 60 лет ИМ диагностирован в 71,91% случаев (у 105 человек из 182 лиц, включенных в исследование), а у пациентов 60 лет и старше — в 67,15%.

Однако, в группе «случай» статистически значимо чаще ( $p=0,006$ ) ИМ диагностирован у мужчин в возрастной категории «моложе 60 лет», тогда как в группе возраста «старше 60» преобладают женщины. Так, к возрастной категории моложе 60 лет с ИМ относились 95 (90,47%) мужчин и 10 (9,52%) женщин, а обследованных с ИМ возрасте 60 лет и старше встретилось 57 (74,03%) и 20 (25,97%) лиц соответственно.

**Таблица 1. Клинико-anamнестические данные группы наблюдения, n=260**

Показатель	Абс. (%)
Мужчины	210 (80,77)
Женщины	50 (29,23)
Возраст старше 60 лет	114 (43,85)
Стенокардия ФК III/IV класса	133 (51,17)
ХСН ФК II	199 (76,54)
Инфаркт миокарда в анамнезе	182 (70,00)
Фибрилляция предсердий	23 (8,85)
Артериальная гипертензия в анамнезе	242 (93,08)
Изолированное поражение коронарных артерий	90 (34,62)
Мультифокальный атеросклероз	170 (65,38)
Желудочковая экстрасистолия III-IV класса градации по Луну	25 (9,62)
Стенозы брахиоцефальных артерий 50% и более	44 (16,92)
Стенозы артерий нижних конечностей	37 (14,23)
Острые нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу в анамнезе	18 (6,92)
Сахарный диабет 2-го типа	36 (13,85)
Нарушение толерантности к глюкозе	38 (14,62)
Хроническая обструктивная болезнь легких	5 (1,92)
Хроническая почечная недостаточность (1 стадия)	11 (4,23)
Хронический пиелонефрит и/или мочекаменная болезнь	74 (28,46)

В группе «контроль» статистически значимой разницы в возрастном-половом составе не обнаружено ( $p=0,10$ ): в возрасте моложе 60 лет не имели ИМ 34 (82,92%) мужчин и 7 (17,07%) женщин, а в возрасте 60 лет и старше — 23 (62,16%) и 13 (37,83%) лиц, соответственно.

Группы «случай» и «контроль» не имели статистически значимых различий по половому признаку и принадлежности к разным возрастным категориям ( $p=0,32$  для лиц моложе 60 лет и  $p=0,38$  для лиц 60 лет и старше). Сопоставимость двух групп по таким немодифицируемым факторам риска ИМ, как пол и возраст, позволило использовать выборку для проведения анализа ассоциаций генов-кандидатов и определения рисков развития заболевания.

#### Сбор биологического материала для исследования

У всех участников исследования для молекулярно-генетического тестирования в пластиковую пробирку типа VACUETTE® (Австрия) с антико-

агулянтом КЗЭДТА из кубитальной вены натощак собирали 5 мл крови. После поступления в лабораторию кровь немедленно, без предварительного центрифугирования, аликвотировали по 0,7 мл в пластиковые стерильные микропробирки с маркировкой «DNase-free» объемом 1,5 мл типа «Эппендорф» (Axugen, США) с плотно закрывающимися крышками. Все образцы биологического материала маркировали соответствующим образом и хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$  до даты проведения исследования.

#### Выбор полиморфных сайтов исследования

Критериями для отбора переменных сайтов с однонуклеотидной заменой (SNP) послужили: локализация в генах, кодирующих ИЛ-18 и структурные единицы белков его рецептора, распространенность минорного аллеля полиморфного сайта в популяции по данным HarMap более 5%, предполагаемые или доказанные последствия на молекулярном уровне и полное или почти полное отсутствие исследований, оценивающих роль того или иного SNP в развитии инфаркта миокарда. Для отбора SNP использовались базы данных dbSNP, SNPinfo и SNPnexus.

Выбрано 9 полиморфных сайтов трех генов: IL18 (rs187238, rs360719, rs1946518), IL18R1 (rs1974675, rs6758936, rs3755276, rs13015714) и IL18RAP (rs917997, rs2058659), их характеристики представлены в табл. 2.

#### Генотипирование

Генотипирование проводили в 96 луночном формате по технологии TaqMan (LifeTechnologies, США) и детекцией результата в режиме реального времени с использованием системы для проведения полимеразной цепной реакции ViiATM 7 RealTime PCR System (LifeTechnologies, США) в соответствии с инструкциями производителя. Итоговый объем реакционной смеси, содержащей 10 нг ДНК, 1,25 мкл каждого праймера, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM дНТФ и 1 ЕД Taq полимеразы (Life Technologies, США) составил 10 мкл. Настройка термоциклера осуществлялась в соответствии с рекомендованными производителем температурно-временными режимами: ферментативная активация — 1 цикл,  $95^{\circ}\text{C}$ , 10 мин; 40 циклов: денатурация — по 15 сек при  $95^{\circ}\text{C}$  и отжиг/продолгация по 1 мин при  $60^{\circ}\text{C}$ . Регистрация сигнала осуществлялась при каждом цикле отжига/продолгации.

Для контроля качества персонал, проводящий исследование, не был поставлен в известность о принадлежности каждого образца конкретному индивидууму, использовались контрольные образцы с известными генотипами и 10% случайно выбранных образцов генотипировано повторно.

Таблица 2. Описание полиморфных вариантов генов, используемых для исследования

SNP	Нуклеотидная замена	Хромосомная позиция	Локализация в гене
Ген IL18			
rs187238	C/G	11:112164265	nearGene-5
rs360719	A/G	11:112165426	nearGene-5
rs1946518	G/T	11:112164735	nearGene-5
Ген IL18R1			
rs1974675	C/T	2:102369915	Интрон
rs6758936	A/G	2:102374909	Интрон
rs3755276	A/G	2:102361999	Интрон
rs13015714	G/T	2:102355405	nearGene-5
Ген IL18RAP			
rs917997	A/G	2:102454108	UTR'3
rs2058659	C/T	2:102438096	Интрон

В некоторых случаях провести типирование отдельных образцов не представлялось возможным в силу отсутствия сигнала при проведении полимеразно-цепной реакции в нескольких последовательных тестах (вероятная причина — особенности молекулярного строения ДНК индивидуума в прилежащем регионе исследуемого сайта), такие образцы были исключены из анализа по конкретному сайту, но использованы для анализа всех других сайтов, прошедших этап генотипирования.

#### Методы статистической обработки

Статистический анализ результатов генотипирования — посредством программы SNPStats. Для исключения ложных ассоциативных связей между вариантными генотипами и рисками развития инфаркта миокарда при каждом расчете регрессионных моделей вводились поправки на факторы риска (далее — поправки на ФР), имеющие собственный рискованный потенциал и вероятность оказать значимое влияние на развитие инфаркта миокарда (возраст, пол, наличие/отсутствие следующих факторов: мультифокального атеросклероза, желудочковой экстрасистолии, фибрилляции предсердий, артериальной гипертензии, варикозной болезни вен нижних конечностей, стеноза артерий нижних конечностей более 50%, хронической obstructивной болезни легких, сахарного диабета 2 типа, хронического пиелонефрита и/или мочекаменной болезни, кист почек, хронической почечной недостаточности).

Для оценки риска вычислялись отношение шансов (ОШ) и 95% ДИ для ОШ по пяти моделям наследования (кодминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной и лог-аддитив-

ной). Наиболее вероятная для наследования каждого конкретного полиморфного сайта модель наследования определена по наименьшему значению информационного критерия Акаике (Akaike's information criterion — AIC).

Различия признавались статистически значимыми при вероятности отклонить верную нулевую гипотезу менее 0,05.

#### Результаты

Определены две статистически значимые ассоциации. Рисковые эффекты в отношении шансов развития ИМ демонстрируют наличие генотипа G/T rs13015714 IL18R1 (ОШ =1,95 (95% ДИ =1,06-3,58), p=0,029) и генотипа C/T rs917997 IL18RAP (ОШ =2,01 (95% ДИ =1,11-3,64), p=0,029). И в том, и в другом случаях наследование по сверх-доминантному типу (таблицы 3,4,5).

Иных статистически-значимых связей между вариabельным носительством аллелей в изучаемых полиморфных сайтах трех генов найдено не было. Не определено статистически значимых зависимостей и между носительством вариантных аллелей, включенных в исследование 9 полиморфных сайтов и возрастнo-половыми характеристиками пациентов, перенесших ИМ.

#### Обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что эффекты, связанные с увеличением риска развития ИМ (в среднем в два раза), имеют генотипы G/T rs13015714 IL18R1 и C/T rs917997 IL18RAP. Ассоциации между увеличением рисков развития ИМ и полиморфизмом в регуляторных участках генов IL18R1 и IL18RAP, расположенных во фланкирую-

**Таблица 3. Данные по частоте встречаемости генотипов полиморфных сайтов IL18 у лиц обследованной когорты с поправками на ФР**

Модель	Генотип	ИМ=нет	ИМ=да	ОШ (95% ДИ)	P	AIC
rs187238 (n=259)						
Кодоминантная	A/A	41 (53,2%)	91 (50,0%)	1,00	0,72	331,8
	A/G	31 (40,3%)	72 (39,6%)	1,19 (0,65-2,17)		
	G/G	5 (6,5%)	19 (10,4%)	1,47 (0,48-4,54)		
Доминантная	A/A	41 (53,2%)	91 (50,0%)	1,00	0,47	330,0
	A/G-G/G	36 (46,8%)	91 (50,0%)	1,23 (0,69-2,19)		
Рецессивная	A/A-A/G	72 (93,5%)	163 (89,6%)	1,00	0,58	330,2
	G/G	5 (6,5%)	19 (10,4%)	1,36 (0,46-4,06)		
Сверхдоминантная	A/A-G/G	46 (59,7%)	110 (60,4%)	1,00	0,67	330,3
	A/G	31 (40,3%)	72 (39,6%)	1,13 (0,63-2,03)		
Лог-аддитивная	---	---	---	1,20 (0,76-1,90)	0,42	329,8
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,55						
rs360719 (n=259)						
Кодоминантная	A/A	41 (53,2%)	91 (50,0%)	1,00	0,72	331,8
	A/G	31 (40,3%)	72 (39,6%)	1,19 (0,65-2,17)		
	G/G	5 (6,5%)	19 (10,4%)	1,47 (0,48-4,54)		
Доминантная	A/A	41 (53,2%)	91 (50,0%)	1,00	0,47	330,0
	A/G-G/G	36 (46,8%)	91 (50,0%)	1,23 (0,69-2,19)		
Рецессивная	A/A-A/G	72 (93,5%)	163 (89,6%)	1,00	0,58	330,2
	G/G	5 (6,5%)	19 (10,4%)	1,36 (0,46-4,06)		
Сверхдоминантная	A/A-G/G	46 (59,7%)	110 (60,4%)	1,00	0,67	330,3
	A/G	31 (40,3%)	72 (39,6%)	1,13 (0,63-2,03)		
Лог-аддитивная	---	---	---	1,20 (0,76-1,90)	0,42	329,8
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,55						
rs1946518 (n=259)						
Кодоминантная	G/G	27 (35,1%)	66 (36,3%)	1,00	0,81	332,0
	G/T	38 (49,4%)	79 (43,4%)	1,04 (0,55-1,96)		
	T/T	12 (15,6%)	37 (20,3%)	1,30 (0,57-2,99)		
Доминантная	G/G	27 (35,1%)	66 (36,3%)	1,00	0,73	330,4
	G/T-T/T	50 (64,9%)	116 (63,7%)	1,11 (0,61-2,01)		
Рецессивная	G/G-G/T	65 (84,4%)	145 (79,7%)	1,00	0,52	330,1
	T/T	12 (15,6%)	37 (20,3%)	1,28 (0,60-2,70)		
Сверхдоминантная	G/G-T/T	39 (50,6%)	103 (56,6%)	1,00	0,86	330,4
	G/T	38 (49,4%)	79 (43,4%)	0,95 (0,54-1,68)		
Лог-аддитивная	---	---	---	1,12 (0,75-1,68)	0,56	330,1
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,25						

щих регионах, могут быть связаны с правильностью работы этих генов. Изменение уровня экспрессии генов субъединиц рецептора ИЛ-18 может привести к нарушению в системе NF- $\kappa$ B-сигнализации и повлиять на активность воспаления [8].

Известно, что IL18R1 вместе с четырьмя другими членами семейства рецепторов интерлейкина 1 (IL1R2, IL1R1, IL1RL2 и IL1RL1) образу-

ют кластер генов на длинном плече 2 хромосомы. В опубликованных данных мало фактов о вкладе полиморфизма IL18R1 и IL18RAP в формирование патологических состояний сердечно-сосудистой системы. Интерес представляет проспективное исследование Tiet L. с соавторами [10], выполненное на немецкой популяции пациентов с нестабильной стенокардией (исключая острый

Таблица 4. Данные по частоте встречаемости генотипов полиморфных сайтов IL18R1 у лиц обследованной когорты с поправками на ФР

Модель	Генотип	ИМ=нет	ИМ=да	ОШ (95% ДИ)	P	AIC
rs1974675 (n=259)						
Кодоминантная	G/G	29 (37,7%)	79 (43,4%)	1,00	0,68	331,7
	A/G	39 (50,6%)	82 (45,0%)	0,77 (0,42-1,41)		
	A/A	9 (11,7%)	21 (11,5%)	0,92 (0,36-2,37)		
Доминантная	G/G	29 (37,7%)	79 (43,4%)	1,00	0,44	329,9
	A/G-A/A	48 (62,3%)	103 (56,6%)	0,79 (0,45-1,42)		
Рецессивная	G/G-A/G	68 (88,3%)	161 (88,5%)	1,00	0,91	330,5
	A/A	9 (11,7%)	21 (11,5%)	1,05 (0,43-2,57)		
Сверхдоминантная	G/G-A/A	38 (49,4%)	100 (55,0%)	1,00	0,39	329,8
	A/G	39 (50,6%)	82 (45,0%)	0,78 (0,44-1,38)		
Лог-аддитивная	---	---	---	0,89 (0,59-1,36)	0,6	330,2
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,78						
rs6758936 (n=259)						
Кодоминантная	G/G	25 (32,5%)	58 (31,9%)	1,00	0,55	331,3
	A/G	34 (44,2%)	94 (51,6%)	1,15 (0,60-2,19)		
	A/A	18 (23,4%)	30 (16,5%)	0,75 (0,33-1,67)		
Доминантная	G/G	25 (32,5%)	58 (31,9%)	1,00	0,96	330,5
	A/G-A/A	52 (67,5%)	124 (68,1%)	1,01 (0,55-1,85)		
Рецессивная	G/G-A/G	59 (76,6%)	152 (83,5%)	1,00	0,31	329,5
	A/A	18 (23,4%)	30 (16,5%)	0,69 (0,34-1,41)		
Сверхдоминантная	G/G-A/A	43 (55,8%)	88 (48,4%)	1,00	0,40	329,8
	A/G	34 (44,2%)	94 (51,6%)	1,28 (0,72-2,26)		
Лог-аддитивная	---	---	---	0,90 (0,60-1,34)	0,59	330,2
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 1,0						
rs3755276 (n=225)						
Кодоминантная	C/C	27 (35,5%)	77 (43,0%)	1,00	0,58	328,2
	C/T	38 (50,0%)	83 (46,4%)	0,78 (0,42-1,45)		
	T/T	11 (14,5%)	19 (10,6%)	0,65 (0,26-1,62)		
Доминантная	C/C	27 (35,5%)	77 (43,0%)	1,00	0,33	326,4
	C/T-T/T	49 (64,5%)	102 (57,0%)	0,75 (0,42-1,35)		
Рецессивная	C/C-C/T	65 (85,5%)	160 (89,4%)	1,00	0,48	326,8
	T/T	11 (14,5%)	19 (10,6%)	0,73 (0,31-1,73)		
Сверхдоминантная	C/C-T/T	38 (50,0%)	96 (53,6%)	1,00	0,62	327,1
	C/T	38 (50,0%)	83 (46,4%)	0,86 (0,48-1,54)		
Лог-аддитивная	---	---	---	0,80 (0,52-1,22)	0,3	326,2
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,68						
rs13015714 (n=257)						
Кодоминантная	T/T	48 (62,3%)	85 (47,2%)	1,00	0,09	326,4
	G/T	21 (27,3%)	81 (45,0%)	1,97 (1,06-3,68)		
	G/G	8 (10,4%)	14 (7,8%)	1,11 (0,41-3,01)		
Доминантная	T/T	48 (62,3%)	85 (47,2%)	1,00	0,054	325,5
	G/T-G/G	29 (37,7%)	95 (52,8%)	1,74 (0,99-3,09)		
Рецессивная	T/T-G/T	69 (89,6%)	166 (92,2%)	1,00	0,77	329,1
	G/G	8 (10,4%)	14 (7,8%)	0,86 (0,32-2,30)		
Сверхдоминантная	T/T-G/G	56 (72,7%)	99 (55,0%)	1,00	0,029	324,4
	G/T	21 (27,3%)	81 (45,0%)	1,95 (1,06-3,58)		
Лог-аддитивная	---	---	---	1,35 (0,87-2,10)	0,18	327,4
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,76						

Таблица 5. Данные по частоте встречаемости генотипов полиморфных сайтов IL18 RAP у лиц обследованной когорты с поправками на ФР

Модель	Генотип	ИМ=нет	ИМ=да	ОШ (95% ДИ)	P	AIC
rs917997 (n=259)						
Кодоминантная	C/C	47 (61,0%)	82 (45,0%)	1,00	0,06	326,9
	C/T	23 (29,9%)	90 (49,5%)	1,98 (1,08-3,63)		
	T/T	7 (9,1%)	10 (5,5%)	0,87 (0,29-2,58)		
Доминантная	C/C	47 (61,0%)	82 (45,0%)	1,00	0,056	326,8
	C/T-T/T	30 (39,0%)	100 (55,0%)	1,73 (0,98-3,05)		
Рецессивная	C/C-C/T	70 (90,9%)	172 (94,5%)	1,00	0,45	329,9
	T/T	7 (9,1%)	10 (5,5%)	0,66 (0,23-1,92)		
Сверхдоминантная	C/C-T/T	54 (70,1%)	92 (50,5%)	1,00	0,018	324,9
	C/T	23 (29,9%)	90 (49,5%)	2,01 (1,11-3,64)		
Лог-аддитивная	---	---	---	1,33 (0,84-2,11)	0,22	329,0
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,29						
rs2058659 (n=257)						
Кодоминантная	G/G	25 (32,5%)	54 (30,0%)	1,00	0,72	329,3
	A/G	34 (44,2%)	92 (51,1%)	1,23 (0,64-2,35)		
	A/A	18 (23,4%)	34 (18,9%)	0,95 (0,42-2,12)		
Доминантная	G/G	25 (32,5%)	54 (30,0%)	1,00	0,67	327,7
	A/G-A/A	52 (67,5%)	126 (70,0%)	1,14 (0,62-2,09)		
Рецессивная	G/G-A/G	59 (76,6%)	146 (81,1%)	1,00	0,62	327,7
	A/A	18 (23,4%)	34 (18,9%)	0,83 (0,41-1,69)		
Сверхдоминантная	G/G-A/A	43 (55,8%)	88 (48,9%)	1,00	0,43	327,3
	A/G	34 (44,2%)	92 (51,1%)	1,26 (0,71-2,21)		
Лог-аддитивная	---	---	---	1,00 (0,67-1,50)	1,0	327,9
P для $\chi^2$ (уравнение Харди -Вайнберга) = 0,9						

ИМ). Из 374 человек, включенных в исследование и наблюдаемых от 3 до 5 лет, 95 умерли по причинам, связанным с сердечно-сосудистой недостаточностью, а 43 — перенесли нефатальный ИМ. В этом исследовании установлено, что по результатам однолокусного анализа, полиморфизм IL-18 в полиморфных локусах +183A/G и + 533 T/ C статистически значимо связан с циркулирующими уровнями ИЛ-18 ( $p = 0,002$  и  $0,003$  соответственно). Установлено, что аллели + 183G и + 533T аддитивно связаны с уменьшением концентрации. Однако, ни каких связей с полиморфизмом генов IL18R1 и IL18RAP в этом исследовании обнаружено не было.

В другом, многоцентровом, исследовании Grisoni M.L. с соавторами [11] изучали вклад пяти полиморфных сайтов с однонуклеотидными заменами (SNP) в IL18R1, шести SNP в IL18RAP, и пяти SNP в IL18 и лиц, включенных в проект MORGAM с целью поиска вероятного взаимодействия между полиморфизмом генов комплекса сигнального

пути ИЛ-18 и развитием инсультов (ишемических и геморрагических) и ИБС (включая установленный и возможный острый ИМ, коронарную смерть, нестабильную стенокардию и сердечную реваскуляризацию). Проект MORGAM основан на выборке 48 когорт из четырех регионов Европы. Однако, авторы не нашли каких-либо значимых ассоциаций и резюмировали свое исследование заключением, что вклад полиморфизма IL18R1 и IL18RAP в модуляцию риска сердечно-сосудистых заболеваний маловероятен. Однако, в более позднем исследовании этого же коллектива авторов [12] показано, что ассоциации с сердечно-сосудистыми заболеваниями имеются, но лишь у курильщиков (ОШ = 1,25 (1,07-1,45),  $p = 0,005$ ), тогда как обратная зависимость наблюдалась у некурящих (OR = 0,90 (0,78-1,02),  $p = 0,111$ ). В заключении авторы резюмируют, что аллель -105T (rs360717 гена IL-18) демонстрирует связи с курением и может модулировать риск развития ССЗ у курящих лиц в европейской популяции.

Однако в нашем исследовании, выявлены ассоциативные связи с полиморфными сайтами рецепторного комплекса ИЛ-18, что может быть связано как с особенностью популяции, так и с сопутствующей патологией, потому как в исследованиях, изучающих заболевания связанных с особенностями иммунных [13] и аутоиммунных [9] заболеваний такие связи обнаружены были. Мы предполагаем, что существует вероятность связи изменчивости генов пути ИЛ-18 в связи с климатическими (длительный холодный период, длительная сезонная недостаточная инсоляция) и урбанизационными (промышленный угольный регион) характеристиками места проживания лиц обследованной нами когорты.

Другой составляющей нашего исследования был поиск ассоциаций с вариабельностью гена IL18, представляющего определенный интерес для исследования с позиции не только его влияния на воспалительную реакцию, но и со стороны высокого консерватизма в его структуре. Ген, кодирующий ИЛ18, расположен в 11 хромосоме, локус 1q22.2-q22.3. [14], имеет 6 экзонов, 5 интронов и один промотор. Несмотря на то, что экзоны и границы интрон-экзон IL18 были секвенированы неоднократно в различных популяциях, в структуре гена не обнаружено несинонимичных SNP [4]. Кроме того, не обнаружено и SNP, которые могли бы мешать сплайсированию мРНК. Это говорит о высоком консерватизме гена, вероятнее всего напрямую связанным с регуляцией воспалительного ответа. Однако существует вариация структуры гена в пределах 5'-нетранслируемого участка (UTR) и 3' UTR, что может вызывать различия в скорости трансляции и стабильности мРНК, а также изменения в проксимальном промоторе, что влияет на скорость транскрипции. Для проведения нашего исследования мы выбрали полиморфные сайты в нетранслируемой области nearGene-5, имеющие функциональную значимость и продемонстрировавшие ассоциативные связи с изменением концентраций ИЛ-18 в исследованиях других авторов [15]. Так в одном из последних исследований [15] показано, что полиморфизм в сайте -137 G>C (rs187238) IL-18 может быть связан с риском ИБС в подгруппе пациентов с гипертонической болезнью и у курильщиков. Авторы предположили также, что носительство минорного аллеля этого полиморфного сайта связано уменьшением уровня экспрессии гена IL-18 и снижает тяжесть ИБС, так как повышенный уровень экспрессии гена IL-18 является важным фактором риска развития коронарного атеросклероза. В более раннем исследовании Omer W. с соавторами [16] утверждают, что оценка полиморфизма генов цитокинов имеет значитель-

ную дискриминационную способность и потенциал в прогнозировании риска раннего развития ИБС, а частоты аллелей генов цитокинов значительно различаются между разными этническими группами. Авторы представили существенные различия в частоте аллелей генов риска между пакистанцами и европеоидами (Northwick Park Heart Study II [NPHSII]) для rs187238 (IL-18), rs1800795 (IL-6), rs1800629 (TNF-альфа) и rs1800871 (IL-10) ( $p < 0,01$ ). Их исследование подтверждает необходимость разработки демографических показателей, специфичных для определенной популяции.

В еще более раннем исследовании Koch W. с соавторами [17] продемонстрировали, что полиморфизм IL18 связан с рисками развития ИМ, выраженными клиническими проявлениями атеросклероза и тромбоза коронарных артерий. Исследование проведено в европейской популяции с включением 2136 лиц с ИМ и 1211 лиц без ИМ в качестве контроля. Продемонстрировано, что rs1946519-G (5'-UTR), rs360717-C (экзон 1), rs 5744241-G (интрон 1), rs1834481-C (интрон 3) и rs3882891-A (интрон 5) ( $P \leq 0,09$ ) и гаплотип (гаплотип GCGCAG,  $P = 0,0028$ ), содержащий мотив GCGCA, полученный из этих аллелей, связаны с повышенным риском ИМ. Авторы утверждают, что ген IL18 является локусом восприимчивости к ИМ и представляет потенциальный интерес к дальнейшему использованию в клинической практике. В исследовании на словенской популяции с включением 495 европеоидов с диабетом типа 2, из которых 169 человек имели ИМ (группа наблюдения), и 326 индивидуумов без клинически выраженных заболеваний коронарных артерий (контроль) Karž S. и Petrovič D. [18]), не выявили существенной разницы в распределении генотипов вариабельных сайтов области промотора гена IL18 rs187238 (-137 G>C) и rs1946518 (-607 C>A) между группой наблюдения и контролем. Авторы заключили, что эти полиморфные сайты в регионах промотора IL-18 не являются фактором риска для ИМ у европеоидов с диабетом типа 2.

На китайской популяции [19] было показано, что полиморфизм в сайтах rs187238 (G/C и аллель C), rs360719 (A/G и аллель G) и rs549908 (G/T и аллель G) связаны с уменьшением риска фибрилляции предсердий. В тоже время полиморфизм промотора IL-18 (-607C/A, rs1946518) связан с риском ишемического инсульта [20].

На российской популяции также были продемонстрированы ассоциативные связи полиморфизма гена IL18 с жизнеугрожающими событиями. В частности, в своей работе Иванова А.А. с соавторами [21] продемонстрировали связь полиморфного сайта rs187238 гена IL18 с внезапной сердечной

смертью (ВСС). Не смотря на схожесть популяций (в исследовании Ивановой А.А. выборка состояла из 379 человек, умерших от ВСС сердечно-сосудистого генеза — жителей территориально близкой к месту проведения нашего исследования Новосибирской области) в нашем исследовании, проведенном на популяции жителей Кемеровской области, ни каких статистически значимых ассоциаций с исследуемыми полиморфными сайтами и рисками развития ИМ, обнаружено не было.

Вероятным объяснением в нашем случае является не только этническая разница в популяциях (по отношению к пакистанцам, китайцами и т.д.), но и в нозологической форме заболевания. В тоже время, ранее в эпидемических исследованиях подчеркивали, что при сопоставлении фенотипических проявлений болезни могут возникнуть побочные ассоциации, если генетическая структура не учитывается должным образом [22]. В других работах показано [23], что воздействие средовых факторов может изменить влияние на риски развития сердечно-сосудистой патологии отдельно взятого региона. Возможно, существует вероятность изменения течения воспалительной реакции под действием регион-обусловленных факторов (Кемеровская область является не только регионом с развитой угольной промышленностью, но и имеет на своей территории ряд предприятий химической индустрии), а также может быть связано с тяжелыми климатическими условиями.

### Заключение:

Таким образом, установлено, что полиморфизм генов комплекса рецептора к ИЛ-18 имеет значение при развитии клинических проявлений атеросклероза коронарных артерий. Носительство минорных аллелей в сайтах rs13015714 IL18R1 и rs917997 IL18RAP связано с большими рисками развития инфаркта миокарда у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца.

Однако, для дальнейшего определения роли этих полиморфных вариантов и значения вариаций сывороточных концентраций в патогенезе прогрессирования атеросклероза необходимо проспективное наблюдение как в целом за всей когортой пациентов со стабильной ИБС, так и за лицами, носителями рискованных генотипов, но не имеющих на момент обследования инфаркта миокарда.

### Ограничения исследования

Несмотря на проведение исследования в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики, имеется ряд ограничений, как: одноцентровость, ограниченность выборки и не возмож-

ность охватить используемыми лабораторными методами весь спектр вариаций исследуемых генов.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

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

### Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0012 «Мультифокальный атеросклероз и коморбидные состояния. Особенности диагностики, управления рисками в условиях крупного промышленного региона Сибири»

### Список литературы / References

1. Godefroy T, Lubos E, Nicaud V, et al. Genetic analysis of the interleukin-18 system highlights the role of the interleukin-18 gene in cardiovascular disease. *AtheroGene Investigators. Circulation.* 2005;112(5):643-650.
2. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, et al. Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001;12:53-72.
3. Gerdes N, Sukhova GK, Libby P, et al. Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis. *J Exp Med.* 2002; 195: 245-257.
4. Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, et al. Interleukin 18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation.* 2002; 106: 24-30.
5. Blankenberg S, Luc G, Ducimetière P, et al. on behalf of the PRIME Study Group. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: The Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation.* 2003; 108: 2453-2459.
6. Zykov MV, Kashtalap VV, Bykova IS, et al. Clinical and predictive value of serum interleukine-18 in ST elevation myocardial infarction. *Russian Journal of Cardiology.* 2015;11(127): 70-74. In Russian [Зыков М.В., Кашталап В.В., Быкова И. С., и др. Клиническое и прогностическое значение сывороточного интерлейкина-18 у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST. *Российский кардиологический журнал.* 2015;11(127):70-74].
7. Zhu J, Liu C, Teng X, et al. Association of the interleukin-18 receptor 1 and interleukin-18 receptor accessory protein polymorphisms with the risk of esophageal cancer. *Biomedical reports.* 2016; 4(2): 227-235.
8. Paramel Varghese G, Folkersen L, Strawbridge RJ, et al. NLRP3 Inflammasome Expression and Activation in Human Atherosclerosis. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5 (5): e003031.
9. Boraschi D, Dinarello CA. IL-18 in autoimmunity: review. *Eur. Cytokine Netw.* 2006;17: 224-252.
10. Tiret L, Godefroy T, Lubos E, et al. Atherogene Investigators: Genetic analysis of the interleukin-18 system highlights the role of the interleukin-18 gene in

cardiovascular disease. *Circulation*. 2005;112:643-650.

11. Grisoni M.-L, Proust C, Alanne M, et al. Project: Haplotype analysis of tag SNPs of the interleukin-18 gene in relation to cardiovascular disease events: The MORGAM Project. *Eur J Hum Genet*. 2008; 16: 1512-1520.

12. Grisoni M.-L, Proust C, Alanne M, et al. Lack of association between polymorphisms of the IL18R1 and IL18RAP genes and cardiovascular risk: the MORGAM Project *BMC Medical Genetics*. 2009;10: 44.

13. Hedl M, Zheng S, Abraham C. The IL18RAP Region Disease Polymorphism Decreases IL-18RAP/IL-18R1/IL-1R1 Expression and Signaling through Innate Receptor-Initiated Pathways. *J Immunol*. 2014;192 (12): 5924-5932.

14. Nolan KF, Greaves DR, Waldmann H. The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. *Genomics*. 1998; 51: 161-168.

15. Hoseini F, Mahmazi S, Mahmoodi K, et al. Evaluation of the Role of -137G/C Single Nucleotide Polymorphism (rs187238) and Gene Expression Levels of the IL-18 in Patients with Coronary Artery Disease. *Oman Med J*. 2018;33(2):118-125.

16. Omer W, Naveed AK, Khan OJ, et al. Role of Cytokine Gene Score in Risk Prediction of Premature Coronary Artery Disease. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2016;20(11): 685-691.

17. Koch W, Wolferstetter H, Schatke A, et al. Interleukin 18 gene variation and risk of acute myocardial infarction. *Cytokine*. 2011; 3:786-791.

18. Kariž S, Petrovič D. Interleukin-18 Promoter Gene Polymorphisms are not associated with Myocardial Infarction in Type 2 Diabetes in Slovenia. *Balkan J Med Genet*. 2011.14(1): 3-9.

19. Wang Y-H, Fu L, Wang B. et al. Genetic variants of interleukin-18 are associated with reduced risk of atrial fibrillation in a population from Northeast China. *Gene*. 2017; 626: 269-274

20. Lu JX, Lu ZQ, Zhang SL, et al. Correlation between interleukin-18 promoter -607C/A polymorphism and susceptibility to ischemic stroke. *Braz J Med Biol Res*. 2013;46(6):502-506.

21. Ivanova AA, Maksimov VN, Ivanoshchuk DE, et al. Association of the CCR2 gene RS1799864, IL18 gene RS187238, and the NOS3 gene RS1799983 with sudden cardiac death. *Forensic medicine journal*. 2016;3(5):20-25. In Russian. [Иванова А.А., Максимов В.Н., Иваношчук Д.Е., и др. Исследование ассоциации rs1799864 гена CCR2, rs187238 гена IL18, rs1799983 гена NOS3 с внезапной сердечной смертью. *Вестник судебной медицины*. 2016; 3(5):20-25].

22. Novembre J, Johnson T, Bryc K, et al. Genes mirror geography within Europe. *Nature*. 2008;456(7218):98-101.

23. Tabakaev MV, Vlasenko AE, Naumova SA, Artamonova GV. Approaches to the evaluation of the environmental influence on cardiovascular pathology among urban population. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015;(4):61-66. In Russian. [Табакаев М.В., Власенко А.Е., Наумова С.А., Артамонова Г.В. Подходы к оценке влияния условий окружающей среды на сердечно-сосудистую патологию городского населения. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2015;(4):61-66].

### Информация об авторах:

Понасенко Анастасия Валериевна, к.м.н., заведующая лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ»;

Цепочкина Анна Викторовна, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины, отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ»;

Хуторная Мария Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ»;

Долгих Владислав Андреевич, магистрант, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»;

Мальшев Игорь Юрьевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии, Московский государственный медико-стоматологический институт им. А.И. Евдокимова;

Барбараш Ольга Леонидовна, д.м.н., член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «НИИ КПССЗ»;

### Author information:

Ponassenko Anastasia Valerievna, PhD, head of laboratory of genomic medicine, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Kemerovo Cardiology Dispensary;

Tsepokina Anna Viktorovna, junior researcher of laboratory of genomic medicine, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Kemerovo Cardiology Dispensary;

Khutornaya Mariya Vladimirovna, junior researcher of laboratory of genomic medicine, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Kemerovo Cardiology Dispensary;

Dolgikh Vladislav Andreevich, graduate student, Novosibirsk State University;

Malyshev Igor Yurievich, MD, prof., head of the Department of Pathological Physiology, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry;

Barbarash Olga Leonidovna, PhD, MD, prof., Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, director of Kemerovo Cardiology Dispensary.