

## ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТОТ ИНТРОННЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ *IL-1ra<sup>VNTR</sup>* И *IL-4<sup>VNTR</sup>* ПРИ РЕВМАТИЧЕСКИХ ПОРОКАХ МИТРАЛЬНОГО КЛАПАНА СЕРДЦА У ЕВРОПЕОИДОВ СИБИРИ

Понасенко А.В.<sup>1</sup>, Головкин А.С.<sup>1</sup>, Шабалдин А.В.<sup>1,2</sup>, Цепочкина А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Кемерово, Россия

**Резюме.** Поиск ассоциаций аллельных вариантов генов иммунного ответа с развитием митрального стеноза на фоне ревматической болезни сердца является актуальной проблемой в области изучения патогенеза формирования сердечно-сосудистых заболеваний у жителей крупных промышленных регионов Западной Сибири. Среди многообразия определенных в настоящее время полиморфизмов генов интерлейкинов отдельного внимания заслуживает изучение ассоциаций интронных полиморфизмов, заключающихся в вариабельном количестве повторов нуклеотидных последовательностей (VNTR). Типирование генов рецепторного антагониста интерлейкина 1 (*IL-1ra<sup>86bp VNTR</sup>*) и интерлейкина 4 (*IL-4<sup>70bp VNTR</sup>*) показало положительные ассоциации генотипов микросателлитных полиморфизмов второго интрона *IL-1ra\*3R/3R* и третьего интрона *IL-4\*2R/2R* с риском формированием стеноза митрального клапана при ревматической болезни сердца (OR = 12,71; p = 0,0001).

**Ключевые слова:** ревматическая болезнь, стеноз митрального клапана, гены, *IL-1ra*, *IL-4*, вариабельные нуклеотидные тандемные повторы

## FREQUENCY DISTRIBUTION OF INTRONIC POLYMORPHISMS OF *IL-1ra<sup>VNTR</sup>* AND *IL-4<sup>VNTR</sup>* IN RHEUMATIC MITRAL VALVE DISEASE IN CAUCASIAN POPULATION OF SIBERIA

Ponassenko A.V.<sup>a</sup>, Golovkin A.S.<sup>a</sup>, Shabaldin A.V.<sup>a,b</sup>, Tsepokina A.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

<sup>b</sup> Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russian Federation

**Abstract.** A search for associations between allelic variations of immune response genes, and mitral stenosis associated with rheumatic heart disease, represents an important task when studying the pathogenesis of cardiovascular disorders among inhabitants of large industrial regions in Western Siberia. Among multiple polymorphisms of interleukin-encoding genes, a particular attention should be paid to association studies of some intronic polymorphisms with variable numbers of tandem repeats (VNTR). In this respect, genotyping

### Адрес для переписки:

Понасенко Анастасия Валериевна  
ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых  
заболеваний»  
650000, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6.  
Тел.: 8 (951) 591-05-50.  
E-mail: avapanass@mail.ru

### Address for correspondence:

Ponassenko Anastasia V.  
Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular  
Diseases  
650002, Russian Federation, Kemerovo, Sosnovy blvd, 6.  
Phone: 7 (951) 591-05-50.  
E-mail: avapanass@mail.ru

### Образец цитирования:

А.В. Понасенко, А.С. Головкин, А.В. Шабалдин, А.В. Цепочкина, «Особенности распределения частот интронных полиморфизмов *IL-1ra<sup>VNTR</sup>* и *IL-4<sup>VNTR</sup>* при ревматических пороках митрального клапана сердца у европеоидов Сибири» // *Медицинская иммунология*, 2015. Т. 17, № 2, С. 151-158.  
doi: 10.15789/1563-0625-2015-2-151-158

© Понасенко А.В. и соавт., 2015

### For citation:

A.V. Ponassenko, A.S. Golovkin, A.V. Shabaldin, A.V. Tsepokina, "Frequency distribution of intronic polymorphisms of *IL-1ra<sup>VNTR</sup>* and *IL-4<sup>VNTR</sup>* in rheumatic mitral valve disease in caucasian population of Siberia", *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2015, Vol. 17, no. 2, pp. 151-158.  
doi: 10.15789/1563-0625-2015-2-151-158

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-2-151-158>

of interleukin 1 receptor antagonist genes (*IL-1ra*<sup>86bp VNTR</sup>) and interleukin 4 (*IL-4*<sup>70bp VNTR</sup>) has shown positive associations between the intron 2 *IL-1ra*\*3R/3R microsatellite polymorphism, intron 3 *IL-4*\*2R/2R variant, and the risk of mitral stenosis development in patients with rheumatic heart disease (OR = 12.71; p = 0.0001).

**Keywords:** rheumatic disease of heart, mitral stenosis, genes, *IL-1ra*, *IL-4*, variable nucleotide tandem repeats

## Введение

Ревматическое сужение митрального клапана (митральный стеноз, МКБ10 – I05.0, 2011) является одним из морфологических финалов ревматического воспаления [39]. К основным этиологическим факторам развития хронических ревматических болезней сердца относится инфицирование слизистой оболочки носа и глотки β-гемолитическим стрептококком группы А [22]. Ревматическая лихорадка обусловлена развитием аутоиммунного ответа на эпитопы стрептококка и перекрестной реактивностью со схожими эпитопами тканей человека, в том числе почек и сердца [6]. При этом установлено, что на частоту ревматизма несомненное влияние оказывают средовые (в первую очередь стрептококковая инфекция) и генетические факторы. Параллельно с клеточными и гуморальными иммунными реакциями, обуславливающими повреждение тканей и органов [11], определены ассоциации с генетическими факторами, вносящими вклад в пролонгирование системного воспалительного процесса [2, 4, 8].

Доказана важная роль цитокиновой регуляции как в индукции, так и в пролонгации системного воспалительного ответа [19, 22, 28]. С этих позиций полиморфизмы генов цитокинов являются определяющими развитие острой ревматической лихорадки и формирование хронической ревматической болезни сердца [26, 33, 37]. Выявлены этноспецифические особенности ассоциаций полиморфизмов генов цитокинов с хроническими ревматическими болезнями сердца [15, 32, 36]. Различными авторами [20, 21, 42] исследовано множество полиморфизмов генов-кандидатов: *TNFα* (tumor necrosis factor-α; фактора некроза опухоли-α), *IL-1* (interleukin интерлейкина-1), *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, наряду с классическими исследованиями генов *HLA-DRB1\**, *HLA-DQA1\**, *HLA-DQB1\**. В то же время отмечено влияние аллельных вариантов генов на свойства и функционирование белковых продуктов этих генов и наличие ассоциаций отдельных аллелей с различными нозологическими формами заболеваний [3, 12]. Показано [40], что ревматическая лихорадка и хроническая ревматическая болезнь сердца в разных популяциях мира ассоциированы с различными генетическими маркерами. В семитских популяциях с хроническими ревматическими болезнями сердца были положительно ассоциированы аллели и генотипы *IL-1ra*<sup>vntr</sup>, *TNFα*<sup>-308</sup>, *IL-6*<sup>-174</sup> [40, 42]. При этом в монголоид-

ных популяциях выраженных ассоциаций между полиморфизмами генов *IL-1b*<sup>-511</sup>, *IL-1b*<sup>+3954</sup>, *IL-4*<sup>vntr</sup>, *IL-1ra*<sup>vntr</sup>, *IL-10*<sup>1082</sup> и данной патологией не выявлено [36].

Однако, следует отметить, что качестве кандидатного, актуального для различных мировых популяций, предлагается микросателлитный интронный полиморфизм *IL-1ra 86 dp VNTR*, для которого некоторыми авторами [27, 31] описаны ассоциации с ревматическими болезнями. Поиски с этих позиций оправданы тем, что молекула *IL-1ra* регулирует экспрессию и функциональную активность *IL-1β*, главного медиатора иммунной кооперации и воспаления. Дисбаланс продукции *IL-1β* и *IL-1ra* приводит к пролонгированию воспалительного ответа, что сопровождается поражением тканей и органов [35]. Ген, кодирующий *IL-1ra*, располагается на второй хромосоме и имеет микросателлитный полиморфизм (VNTR) длиной в 86 нуклеотидных оснований (86 base pair) во втором интроне. Для данного полиморфизма описано четыре аллеля, при этом второй аллель ассоциирован с воспалительными заболеваниями [25].

Другим кандидатным геном является *IL-4*, определяющий функциональную активность провоспалительного цитокина *IL-4*. *IL-4* участвует в стимуляции гуморального иммунного ответа и в ограничении клеточного [7]. Микросателлитный полиморфизм *IL-4* в третьем интроне длиной в 70 пар оснований (*70 dp VNTR*) детерминирует степень экспрессии этого цитокина, а через это и его медиаторную ограничительную активность при развитии реакций воспаления [24].

С этих позиций продолжение исследований по поиску ассоциаций между полиморфизмами генов цитокинов и развитием хронических ревматических болезней сердца, а также определение их вклада в процесс формирования данной патологии, является актуальной задачей современных исследований. В то же время исследования в этой области среди европеоидного населения Сибири хоть и ведутся [4, 5], но крайне ограниченным числом авторов и не охватывают в полной мере спектр полиморфных вариантов генов цитокинов, а также ограничено число заболеваний, в отношении которых ведется поиск ассоциаций.

Однако, исследование с позиции поиска ассоциаций аллельных вариантов генов иммунного ответа и стеноза митрального клапана, как результата течения ревматической болезни сердца, в популяции жителей Западной Сибири является

актуальным в связи с распространенностью данного заболевания на этой территории.

**Цель настоящего исследования** заключается в поиске генетических маркеров риска формирования ревматических стенозов митрального клапана сердца у европеоидов Западной Сибири.

## Материалы и методы

Группу исследования составили 74 пациента (59 мужчин и 15 женщин) в возрасте от 36 до 40 лет, прооперированных по поводу ревматического стеноза митрального клапана сердца на базе НИИ КПССЗ.

Группу сравнения составили 264 условно здоровых донора, сопоставимых с группой исследования по возрасту и полу.

Все обследуемые относились к европеоидной расе и проживали на территории Западной Сибири (Кемеровская область) с рождения.

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови, методом фенол-хлороформной экстракции [34]. Генотипирование микросателлитных tandemных повторов *IL-1ra* (86 bp VNTR) и *IL-4* (70 bp VNTR) проводили методом одноэтапной ПЦР с праймерами, фланкирующими исследуемые районы интронов. Исследовался tandemный повтор величиной 86 bp второго интрона *IL-1ra* и tandemный повтор величиной 70 bp третьего интрона *IL-4*. Для *IL-1ra* выявляли четыре аллеля: с двумя, тремя, четырьмя и пятью tandemными повторами (repeated – R), которые, соответственно, обозначали 2R, 3R, 4R, 5R. Для *IL-4* определяли диаллельный полиморфизм с двумя и тремя tandemными повторами, соответственно – 2R и 3R. Использовали ПЦР режимы, предлагаемые производителем – НИХБФМ СО РАН. Детекцию продуктов амплификации определяемых аллелей *IL-1ra* и *IL-4* проводили методом электрофореза в 6% полиакриламидном геле, с последующим окрашиванием бромистым этидием. Учет результатов осуществляли в темновой камере с трансиллюминатором и системой документирования гелей «Gel Doc» (BioRad, USA). Примеры документированных гелей представлены на рисунках 1 и 2.

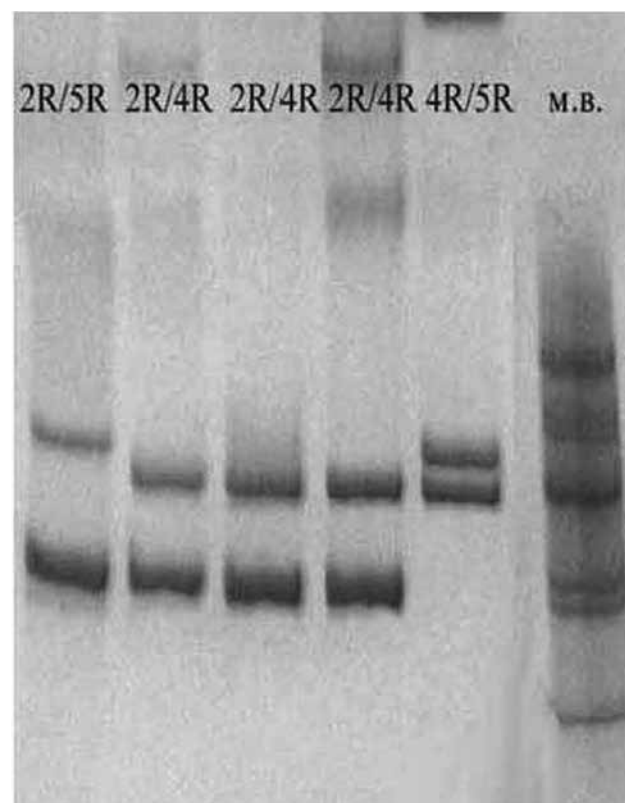
Статистическая обработка количественных данных проводилась с использованием лицензионного пакета программного обеспечения Statistica® for Windows 6,0., StatSoftInc., США (Серийный номер: AXXR003E608729FAN10). Распределение генотипов проверяли на соответствие ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга [41]. Для попарного сравнения частот аллелей и генотипов проводили анализ с помощью  $\chi^2$  критерия Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность или точного критерия Фишера (в случае численности одного из классов менее пяти). Ожидаемую гетерозиготность рассчитыва-

ли по Nei M. [30]. Об ассоциации разных генотипов, их комбинаций с заболеваниями судили по величине отношения шансов (odds ratio – OR) [18], с 95% доверительным интервалом (CI 95%). Считали ассоциацию положительной при OR более 2,00. Результаты считали достоверными при ошибке менее 5% ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

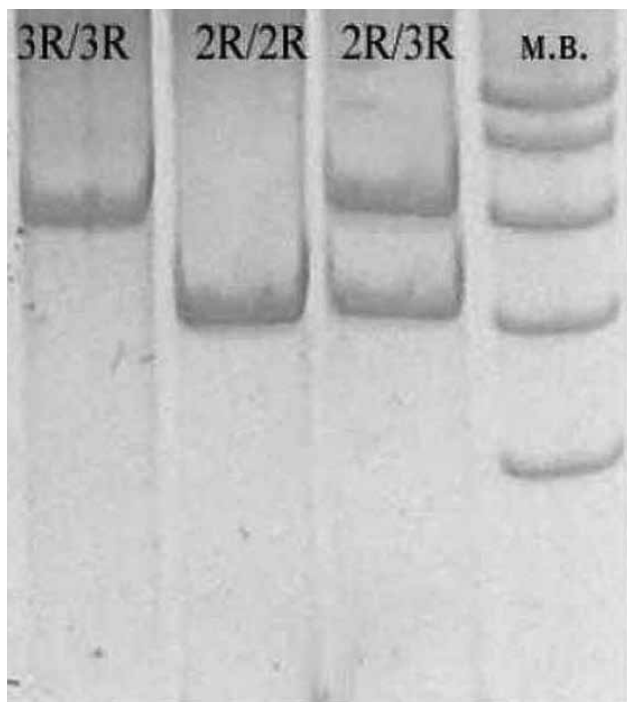
При генотипировании интронного полиморфизма *IL-1ra* определено, что в группе здоровых доноров отсутствовали некоторые из возможных аллелей данного полиморфизма (табл. 1). В таблице представлено, что в этой группе аллель *IL-1ra\*5R* не встречался. В то время как наименьший процент обследованных являлись носителями аллеля *IL-1ra\*3R* – 10,09% доноров, также малой была частота аллеля *IL-1ra\*2R* – 16,51%. Одновременно носительство аллеля *IL-1ra\*4R* выявлено у 73,40% доноров. При определении частоты встречаемости генотипов *IL-1ra* (табл. 2) в группе доноров показано, что гомозиготы *IL-1ra\*4R/4R* доминировали (55,05% случаев).

Одновременно определено отсутствие у индивидумов из данной группы следующих геноти-



**Рисунок 1. Электрофореграмма продуктов амплификации *IL-1ra*<sup>86bp VNTR</sup> в 6%-ном полиакриламидном геле, окраска бромистым этидием**

**Примечание.** Дорожки обозначены полученными генотипами (вверху обозначены аллели и маркер молекулярного веса ДНК плазмиды pBluscriptSKII, гидролизованной эндонуклеазой рестрикции MspI).



**Рисунок 2. Электрофореграмма продуктов амплификации *IL-4*<sup>70bp VNTR</sup> в 6%-ном полиакриламидном геле, окраска бромистым этидием**

**Примечание.** Дорожки обозначены полученными генотипами (вверху обозначены аллели и маркер молекулярного веса ДНК плазмиды pBluscriptSKII, гидролизованной эндонуклеазой рестрикции MspI).

пов: *IL-1ra*\*2R/3R; *IL-1ra*\*2R/5R; *IL-1ra*\*3R/3R; *IL-1ra*\*3R/5R; *IL-1ra*\*4R/5R и *IL-1ra*\*5R/5R. Тем не менее, частоты наблюдаемых генотипов в данной выборке не отличались от расчетных по формуле Харди–Вайнберга ( $p > 0,05$ ), что говорит о сохранении популяционных признаков панмиксии для этого гена.

У пациентов группы исследования наблюдалось несколько иное соотношение встречаемости частот генотипов *IL-1ra*<sup>86bp VNTR</sup> (табл. 2), тогда как частоты аллелей не имели статистически значимых отличий от таковых группы сравнения (табл. 1). Так определено, что аллель *IL-1ra*\*5R встречался у пациентов группы исследования

в 1,35% случаев. Частота аллеля *IL-1ra*\*3R составила 15,54%, аллеля *IL-1ra*\*2R – 14,19%, а аллеля *IL-1ra*\*4R – 68,9%. Ведущим генотипом *IL-1ra* в группе исследования был гомозиготный генотип *IL-1ra*\*4R/4R (52,70%), наиболее редким – *IL-1ra*\*5R/5R (1,35%). В то же время у пациентов данной выборки отсутствовали генотипы: *IL-1ra*\*2R/3R; *IL-1ra*\*2R/5R; *IL-1ra*\*3R/5R; *IL-1ra*\*4R/5R. Сравнение опытных генотипов, с учетом частоты аллелей в выборке, с расчетными не показало достоверных различий ( $p > 0,05$ ), что указывает на отсутствие отклонений в выборке от панмиксного распределения, в соответствии с законом Харди–Вайнберга.

При проведении межгруппового сравнения частот аллелей и генотипов *IL-1ra* определено, что у пациентов с ревматическим стенозом митрального клапана сердца достоверно чаще ( $p < 0,05$ ; OR = 12,71; CI95% = 3,57-45,22), чем у здоровых доноров (5,41% против 0,02% соответственно), встречался генотип *IL-1ra*\*3R/3R.

Других достоверных различий в сравниваемых группах по частоте аллелей и генотипов *IL-1ra*<sup>86bp VNTR</sup> не получено.

Результаты распределения в группах аллелей VNTR третьего интрона *IL-4* представлены в таблице 3.

Как показано, генотипы *IL-4*<sup>70bp VNTR</sup> у обследуемых двух групп представлены всеми аллелями. При этом в исследуемой группе частоты аллелей *IL-4*\*2R и *IL-4*\*3R были сопоставимы (52,3% и 47,7%,  $p > 0,05$ ). Тогда как в группе сравнения доминировал аллель 2R – 77, 03% против 22,97% аллеля 3R ( $p < 0,001$ ). Одновременно определено, что в группе исследования доминировал гомозиготный генотип 2R/2R (63,51%), а в группе сравнения – гетерозиготный 2R/3R (62,88%).

Частоты наблюдаемых генотипов VNTR третьего интрона *IL-4* в двух анализируемых группах не отличались от расчетных по формуле Харди–Вайнберга ( $p > 0,05$ ).

Попарное сравнение частот аллелей и генотипов *IL-4* (VNTR 70bp) между генотипами группы исследования и группы сравнения показало

**ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЧАСТОТ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ *IL-1ra*<sup>86BP VNTR</sup> В АНАЛИЗИРУЕМЫХ ГРУППАХ**

Аллели	Группа				OR (CI 95%)
	Исследования n = 148		Сравнения n = 218		
	Абс.	%	Абс.	%	
2R	21,00	14,19	36,00	16,51	0,61 (0,17-2,17)
3R	23,00	15,54	22,00	10,09	1,19 (0,33-4,21)
4R	102,00	68,92	160,00	73,39	0,81 (0,23-2,86)
5R	2,00	1,35	0,05 <sup>1</sup>	0,02 <sup>1</sup>	6,78 (1,91-24,08)*

**Примечание.** <sup>1</sup> – аллель в группе не встречался, применена поправка на непрерывность выборки; \* –  $p < 0,05$  при попарном сравнении групп.

**ТАБЛИЦА 2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЧАСТОТ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОТИПОВ *IL-1ra*<sup>86BP VNTR</sup> В АНАЛИЗИРУЕМЫХ ГРУППАХ**

Генотипы	Группа				OR (CI 95%)
	Исследования n = 74		Сравнения n = 109		
	Абс.	%	Абс.	%	
2R/2R	6	8,11	9,00	8,26	1,00 (0,28-3,54)
2R/4R	9	12,16	18,00	16,51	1,39 (0,39-4,96)
3R/3R	4	5,41	0,05 <sup>1</sup>	0,02 <sup>1</sup>	12,71 (3,57-45,22)
3R/4R	15	20,27	22,00	20,18	0,99 (0,27-3,51)
4R/4R	39	52,7	60,00	55,05	1,10 (0,31-3,91)
5R/5R	1	1,35	0,05 <sup>1</sup>	0,02 <sup>1</sup>	4,06 (1,14-14,46)

**Примечание.** <sup>1</sup> – генотип в группе не встречался, применена поправка на непрерывность выборки; \* –  $p < 0,05$  при попарном сравнении групп.

**ТАБЛИЦА 3. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЧАСТОТ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ *IL-4*<sup>70BP VNTR</sup> В АНАЛИЗИРУЕМЫХ ГРУППАХ**

Аллели	Группа				OR (CI 95%)
	Основная n = 148		Сравнения n = 528		
	Абс.	%	Абс.	%	
2R	114	77,03	276	52,27	3,03 (1,04-8,82)*
3R	34	22,97	252	47,73	0,33 (0,1-0,96)*

**Примечание.** \* –  $p < 0,05$  при попарном сравнении групп.

как положительные, так и отрицательные ассоциации (табл. 4).

В группе больных с ревматическим сужением митрального клапана достоверно чаще, чем в группе сравнения, встречался аллель *IL-4*<sup>2R</sup> (77,03% против 52,27%; OR = 3,02; CI 95% = 1,04-8,82;  $p < 0,001$ ). Отрицательно ассоциированным с ревматическим пороком сердца был аллель *IL-4*<sup>3R</sup>, который достоверно реже встречался в группе исследования по сравнению с группой доноров (22,97% против 47,73%; OR = 0,33; CI 95% = 0,1-0,96;  $p < 0,001$ ).

Попарное сравнение генотипов вариабельного tandemного интронного полиморфизма 70 bp *IL-4*, так же как и в случае *IL-1ra*<sup>86bpVNTR</sup>, показало одну положительную и одну отрицательную ассоциации. Так, гомозиготный генотип *IL-4*<sup>2R/2R</sup> достоверно чаще встречался в группе исследования, по отношению к группе сравнения (63,51% против 20,83%; OR = 4,49; CI 95% = 1,53 – 13,11;

$p < 0,001$ ). Отрицательную ассоциацию с ревматическими митральными стенозами клапанов сердца показал генотип *IL-4*<sup>2R/3R</sup> (OR = 0,15; CI 95% = 0,04-0,51;  $p < 0,001$ ).

## Обсуждение

Исследования интронного полиморфизма гена рецепторного антагониста интерлейкина-1 (*IL-1ra*) в различных популяциях мира ведутся с конца прошлого столетия [35]. Доказано, что аллель *IL-1ra*<sup>4R</sup> и соответствующий гомозиготный генотип *IL-1ra*<sup>4R,4R</sup> является доминантным (мажорным) для многих популяций мира, а аллель *IL-1ra*<sup>2R</sup> и соответствующий гомозиготный генотип *IL-1ra*<sup>2R,2R</sup> – минорным. Показано, что аллели *IL-1ra*<sup>3R</sup>, *IL-1ra*<sup>5R</sup> и генотипы, содержащие эти аллели, являются редкими для многих популяций мира [31, 40]. В то же время именно по этим редким аллелям и соответ-

**ТАБЛИЦА 4. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЧАСТОТ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОТИПОВ *IL-4*<sup>70BP VNTR</sup> В АНАЛИЗИРУЕМЫХ ГРУППАХ**

Генотипы	Группа				OR (CI 95%)
	Исследования n = 74		Сравнения n = 109		
	Абс.	%	Абс.	%	
2R/2R	47	63,51	55	20,83	4,49 (1,53-13,11)*
2R/3R	20	27,03	166	62,88	0,15 (0,04-0,51)*
3R/3R	7	9,46	43	16,29	0,57 (0,19-1,65)

**Примечание.** \* –  $p < 0,05$  при попарном сравнении групп.

ствующим генотипам выявляются положительные ассоциации с различной иммунопатологией [3, 17, 20, 31, 33, 36]. Для интронного микросателлитного полиморфизма гена *IL-4* показано, что для многих популяций мира доминирующими являются аллель с двумя tandemными повторами и соответствующий гомозиготный генотип [29]. По этим свойствам исследуемая выборка европеоидов Сибири соответствовала параметрам других европейских популяций [12].

К вопросу о том, как могут влиять эти генетические полиморфизмы на формирование приобретенного порока сердца ревматической природы, необходимо подойти с позиции уже известных фактов. Митральный стеноз при ревматизме является финалом выраженного иммунокомплексного воспаления или аутоаллергической реакции, которые индуцируются либо за счет мимикрии антигенов стрептококка и антигенов эндокарда, либо за счет поливалентной активации гуморального иммунного ответа суперантигенами гемолитического стрептококка [1]. И в том, и в другом случае локальное воспаление в эндокарде связано с антительными комплемент-зависимыми реакциями. С позиции цитокиновой регуляции эти реакции могут поддерживаться за счет высокой выработки *IL-4* и соответствующей стимуляции гуморального иммунного ответа, индуцированного суперантигенами, а также за счет снижения утилизации иммунных комплексов при недостаточной активации фагоцитарных клеток [10].

Для выбранных интерлейкинов и их генов показано, что макросателлитный интронный полиморфизм влияет на транскрипционную активность и стабильность матричной РНК, а значит и на синтез кодируемой молекулы [14]. Аллель с меньшим числом tandemных повторов определяет более высокий уровень транскрипционной активности, сплайсинга и стабильность матричной РНК по сравнению с аллелями с большим числом tandemных повторов [14]. С этих позиций аллели с низким числом микросателлитных tandemных повторов: *IL-Ira\*2R* и *IL-Ira\*3R* — будут детерминировать активный синтез *IL-1ra* [35]. В экспериментальной модели доказано, что *IL-1b* и *IL-1ra* являются лигандами одного рецептора и конкурируют за связь с ним [14, 35]. В то же время исследования концентрации этих цитокинов в периферической крови показали, что высокий уровень *IL-1ra* положительно ассоциирован с низким уровнем *IL-1b* [35], что позволило авторам высказать предположение о регулирующей роли *IL-1ra* в отношении синтеза *IL-1b* [35]. Принимая во внимание эти данные, можно говорить

о том, что у лиц с активным синтезом *IL-1ra* будет угнетаться эффект *IL-1β* по отношению к фагоцитарным клеткам. Как уже говорилось выше, именно низкий уровень фагоцитоза иммунных комплексов является важным звеном патогенеза ревматического воспаления [11].

Проводя аналогию для *IL-4* отметим, что аллель с низким числом tandemных повторов в интроне (*IL-4\*2R*) и особенно гомозиготный генотип будут детерминировать высокий синтез *IL-4*, что влечет за собой активацию гуморального звена иммунитета индуцированного суперантигенами стрептококка [38]. Важным доказательством высказанных предположений являются ранее выявленные положительные ассоциации с ревматическими заболеваниями аллелей и генотипов *IL-Ira* и *IL-4* с низким числом tandemных повторов в интроне [13, 19].

Необходимо отметить, что в подтверждение ранее опубликованных исследований и связанных с ними теорий, проведенное исследование в популяции европеоидов Западной Сибири показало для генотипов *IL-Ira<sup>86bpVNTR</sup>\*3R/3R* и *IL-4<sup>70bpVNTR</sup>\*2R/2R* высокий относительный фактор риска формирования стеноза митрального клапана сердца ревматической природы.

Стоит отметить, что группа сравнения по характеру распределения аллелей и генотипов *IL-Ira<sup>86bpVNTR</sup>* и *IL-4<sup>70bpVNTR</sup>* отвечала популяционным признакам панмиксии, и полученные результаты правомочно трансформировать на локальную популяцию европеоидов Западной Сибири в целом. Соответственно, эти генотипы можно рекомендовать как генетический маркер для прогнозирования риска развития сужения митрального клапана сердца при ревматической болезни сердца у европейского населения Западной Сибири.

## Выводы

Генотипы микросателлитных полиморфизмов *IL-Ira\*3R/3R* и *IL-4\*2R/2R* положительно ассоциированы с риском формирования митрального стеноза при хронической ревматической болезни сердца у европеоидов Западной Сибири. Возможно рекомендовать применение типирования макросателлитных полиморфизмов *IL-Ira<sup>86bpVNTR</sup>* и *IL-4<sup>70bpVNTR</sup>* у декретированных групп детей и взрослых с хроническим тонзиллитом и ревматическими реакциями. Достаточная простота исполнения, невысокая стоимость исследования при высокой воспроизводимости результатов позволят применять этот метод в практическом здравоохранении.

## Список литературы / References

1. Анохин В.Н. Современные взгляды на этиологию и патогенез ревматической лихорадки // Российский медицинский журнал, 1997. № 4. С. 4-11. [Anokhin V.N. Current views on the etiology and pathogenesis of rheumatic fever. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 1997, no. 4, pp. 4-11. (In Russ.)]

2. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление, 2005. Т. 4, № 2. С. 3-12. [Gromova A.Yu., Simbirtsev A.S. Gene polymorphisms of interleukin-1 family cytokines. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, Vol. 4, no. 2, pp. 3-12. (In Russ.)]
3. Коненков В.И. Аллельный полиморфизм генов про- и противовоспалительных цитокинов при инфаркте миокарда в европеоидной популяции мужчин // Бюллетень СО РАМН, 2006. Т. 2, № 120. С. 56-62. [Konenkov V.I. Allelic polymorphism of genes pro and anti-inflammatory cytokines at myocardial infarction in populations of men. *Byulleten' SO RAMN = Bulletin of SB RAMS*, 2006, Vol. 2, no. 120, pp. 56-62. (In Russ.)]
4. Коненков В.И., Смольникова М.В. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов // Медицинская иммунология, 2003. Т. 5, № 1-2. С. 11-28. [Konenkov V.I., Smolnikova M.V. Structure and functional importance of allelic polymorphism of human cytokine genes and their receptors. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2003, Vol. 5, no. 1-2, pp. 11-28. (In Russ.)]
5. Коненков В.И., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В., Голованова О.В. Полиморфизм генов цитокинов как один из факторов демографической структуры европеоидного населения Сибири // Иммунология, 2011. Т. 32. С. 60-65. [Konenkov V.I., Prokofiev V. F., Shevchenko A., Golovanova O. A. The cytokine gene polymorphism as a factor of the demographic structure of the Caucasoid population in Siberia. *Immunologiya = Immunology*, 2011, Vol. 32, no. 2, pp. 60-65. (In Russ.)]
6. Кузьмина Н.Н. Проблема ревматической лихорадки у детей в начале XXI века // Ревматология, 2003. Т. 1. С. 3-6. [Kuzmina N.N. Problem of rheumatic fever in children in the XXI century. *Revmatologiya = Rheumatology*, 2003, Vol. 1, pp. 3-6. (In Russ.)]
7. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление, 2004. № 3. С. 16-22. [Simbirtsev A.S. Cytokines – classification and biologic functions. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2004, Vol. 3, no. 2, pp. 16-22. (In Russ.)]
8. Симбирцев А.С., Громова А.Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления // Цитокины и воспаление, 2005. Т. 4, № 1. С. 3-10. [Simbirtsev A.S., Gromova A.Yu. Functional gene polymorphisms of the molecules regulating inflammation. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, Vol. 4, no. 1, pp. 3-10. (In Russ.)]
9. Стрюк Р.И. Заболевания сердечно-сосудистой системы и беременность: рук. для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 280 с. [Stryuk R.I. Diseases of the cardiovascular system and pregnancy: manual for physicians]. Moscow: Geotar-Media, 2010. 280 p.
10. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии: диагностика заболеваний иммун. системы: рук. для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 352 с. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Yarilin A.A. Guide to Clinical Immunology. Diagnosis of diseases of the immune system: manual for physicians]. Moscow: Geotar-Media, 2009. 352 p.
11. Царенок С.Ю., Горбунова В.В. Показатели цитокинов сыворотки крови и лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных повторной ревматической лихорадкой // Забайкальский медицинский вестник, 2009. № 2. С. 43-46. [Tsarenok S.Y., Gorbunova V.V. Levels of serum cytokines and lymphocyte-platelet adhesion in patients with rheumatic fever. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik = Zabaikalskii Medical Bulletin*, 2009, no. 2, pp. 43-46. (In Russ.)]
12. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и TNF- $\alpha$  европеоидного населения Западной Сибири // Иммунология, 2010. Т. 4. С. 176-181. [Shevchenko A.V., Golovanova O.V., Konenkov V.I. Peculiarities of promoter region polymorphisms of IL1, IL4, IL5, IL6, IL10, and TNF $\alpha$  cytokine genes in a Caucasoid population of Western Siberia. *Immunologiya = Immunology*, 2010, Vol. 31, no. 4, pp. 176-181. (In Russ.)]
13. Amirzargar A.A., Movahedi M., Rezaei N., Moradi B., Dorkhosh S., Mahloji M., Mahdavian S.A. Polymorphisms in IL4 and IL4RA Confer Susceptibility to Asthma. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2009, Vol. 19, no. 6, pp. 433-438.
14. Arend, W.P., Malyak M., Guthridge C. J. Interleukin-1 receptor antagonist: Role in Biology. *Annu. Rev. Immunol.*, 1998, Vol. 16, pp. 27-55.
15. Azevedo P.M., Bauer R., Caparbo V. F., Silva C.A., Bonfa E., Pereira R.M. Interleukin-1 receptor antagonist gene (IL1RN) polymorphism possibly associated to severity of rheumatic carditis in a Brazilian cohort. *Cytokine*, 2010, Vol. 49, no. 1, pp. 109-113.
16. Belardelli F. Role of interferons and other cytokines in the regulation of the immune response. *APMIS*, 1995, Vol. 103, p. 161
17. Blakemore A.I., Tarlow J.K., Cork M.J. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism as a disease severity factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheu.*, 1994, Vol. 37, no. 9, pp. 1380-385
18. Bland J.M., Altman D.G. The odds ratio. *BMJ*, 2000, Vol. 320, no. 27, p. 1468.
19. Buchs N., Silvestri T., di Giovine F.S., Chabaud M., Vannier E., Duff G.W., Miossec P. IL-4 VNTR gene polymorphism in chronic polyarthritis. The rare allele is associated with protection against destruction. *Rheumatology*, 2000, Vol. 39, no. 10, pp. 1126-1131.
20. Chou H.T., Tsai C.H., Chen W.C., Tsai F.J. Lack of Association of genetic polymorphisms in the interleukin-1 $\beta$ , interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 gene with risk of rheumatic heart disease in Taiwan Chinese. *Int. Heart J.*, 2005, Vol. 46, no. 3, pp. 397-406.
21. Elahi M.M., Asotra K., Matata B.M., Mastana S.S. Tumor necrosis factor alpha-308 gene locus promoter polymorphism: an analysis of association with health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2009, Vol. 1792, no. 3, pp. 163-172.
22. Falk J. Cytokines and Inflammation – GTCbio's Sixth annual conference. *Idrugs*, 2008, Vol. 11, no. 4, pp. 250-251.

23. Guilherme L., Köhler K.F., Kalil J. Rheumatic heart disease: mediation by complex immune events. *Advances in clinical chemistry*, 2011, Vol. 53, no. 2, pp. 31-50.
24. Konwar R., Bid H.K. Location of the 70bp VNTR polymorphic site is in third intron of IL-4 gene. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2008, Vol. 23, no. 2, pp. 204-205.
25. Louis E., Satsangi J., Roussomoustakaki M., Parkes M., Fanning G., Welsh K., Jewell D. Cytokine gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Gut*, 1996, Vol. 39, no. 5, pp. 705-710.
26. Maksymowych W.P., Suarez-Almazor M.E., Buenviaje H., Cooper B.L., Degeus C., Thompson M., Russell A.S. HLA and cytokine gene polymorphisms in relation to occurrence of palindromic rheumatism and its progression to rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 2002, Vol. 29, no. 11, pp. 2319-2326.
27. McGarry F., Neilly J., Anderson N., Sturrock R., Field M. 1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene is associated with ankylosing spondylitis. *Rheumatology*, 2001, Vol. 40, no. 12, pp. 1359-1364.
28. Moorchung N., Srivastava A.N., Gupta N.K., Ghoshal U.C., Achyut B.R., Mittal B. Cytokine gene polymorphisms and the pathology of chronic gastritis. *Singapore Med. J.*, 2007, Vol. 48, no. 5, pp. 447-454.
29. Mout R., Willemze R., Landegent J.E. Repeat polymorphisms in the interleukin-4 gene (IL4). *Nucleic Acids.*, 1991, Vol. 19, no. 13, p. 3763.
30. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, Vol. 89, no. 3, pp. 583-590.
31. Perriera S., Coussediere C., Dubosta J. J., Albuissouc E., Sauvezia B. IL-1 Receptor Antagonist (IL-1RA) Gene Polymorphism in Sjogren's Syndrome and Rheumatoid Arthritis. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 1998, Vol. 87, no. 3, pp. 309-313.
32. Ramasawmy R., Fae K.C., Spina G., Victora G.D., Tanaka A.C., Palacios S.A., Hounie A.G., Miguel E.C., Oshiro S.E., Goldberg A.C., Kalil J., Guilherme L. Association of polymorphisms within the promoter region of the tumor necrosis factor- $\alpha$  with clinical outcomes of rheumatic fever. *Molecular Immunology*, 2007, Vol. 44, no. 8, pp. 1873-1878.
33. Rehman S., Akhtar N., Saba N., Munir S., Ahmed W., Mohyuddin A., Khanum A. A study on the association of TNF- $\alpha$ -308, IL-6-174, IL-10 (1082) and IL-1RaVNTR gene polymorphisms with rheumatic heart disease in Pakistani patients. *Cytokine*, 2013, Vol. 61, no. 2, pp. 527-531.
34. Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. Molecular cloning a laboratory manual, 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989.
35. Settin A., Abdel-Hady H., El-Baz R., Saber I. Gene Polymorphisms of TNF- $\alpha$ <sup>-308</sup>, IL-10<sup>-1082</sup>, IL-6<sup>-174</sup>, and IL-1Ra<sup>VNTR</sup> Related to Susceptibility and Severity of Rheumatic Heart Disease. *Pediatric Cardiology*, 2007, Vol. 28, no. 5, pp. 363-371.
36. Skapenko A., Lipsky P.E., Schulze-Koops H. T cell activation as starter and motor of rheumatic inflammation. *Curr Top Microbiol. Immunol.*, 2006, Vol. 305, pp. 195-211.
37. Subash B., Thomas B. Nutman Proinflammatory Cytokines Dominate the Early Immune Response to Filarial Parasites. *J. of Immunology*, 2003, Vol. 171, no. 12, pp. 6723-6732.
38. URL:<http://mkb-10.com/> (дата обращения 21.11.2014)
39. Vamvakopoulos J.E., Taylor C.J., Morris-Stiff G.J., Green C., Metcalfe S. The interleukin-1 receptor antagonist gene: a single-copy variant of the intron 2 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism. *Eur. J. of Immunogenetics*, 2002, Vol. 29, no.4, pp. 337-340.
40. Wigginton J.E., Cutler D.J., Abecasis G. R. A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *Am. J. of Human Genetics*, 2005, Vol. 76, no. 5, pp. 887-893.
41. Zhang J., Ai R., Chow F. The polymorphisms of HLA-DR and TNF B loci in northern Chinese Han nationality and susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Chin. Med. Sci J.*, 1997, Vol. 12, no. 2, pp. 107-110.

---

**Авторы:**

**Понасенко А.В.** — заведующая лабораторией геномной медицины, ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

**Головкин А.С.** — д.м.н., заведующий отделом экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

**Шабалдин А.В.** — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Кемерово, Россия

**Цепоккина А.В.** — младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины, ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

**Authors:**

**Ponassenko A.V.**, Head, Medical Genomics Laboratory, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

**Golovkin A.S.**, PhD, MD (Medicine), Head, Experimental and Clinical Cardiology Department, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

**Shabaldin A.V.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russian Federation

**Tsepokina A.V.**, Leading Research Associate, Medical Genomics Laboratory, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Russian Federation

---

Поступила 09.12.2014  
Принята к печати 19.12.2014

Received 09.12.2014  
Accepted 19.12.2014