

На правах рукописи

**Титов
Борис Васильевич**

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, БЕЛКОВЫЕ ПРОДУКТЫ КОТОРЫХ
ИГРАЮТ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ВОСПАЛЕНИЯ,
ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ**

03.01.04 - биохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва

2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор Фаворова Ольга Олеговна

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор Мартынов Михаил Юрьевич

Официальные оппоненты:

Баранов Владислав Сергеевич, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук, заведующий лабораторией пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней;

Куцев Сергей Иванович, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, заведующий лабораторией мутагенеза.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук.

Защита диссертации состоится 5 июня 2014 г. в _____ ч на заседании Диссертационного совета Д 001.022.03 при Федеральном государственном бюджетном учреждении "Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины" Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12.

Ознакомиться с диссертацией можно в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения "Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины" Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук и на сайте <http://www.iemrams.spb.ru/russian/dissov03.htm>

Автореферат диссертации разослан « » _____ 2014 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета

Л. К. Хныченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В России, как и во всем мире, острые нарушения мозгового кровообращения являются одной из важнейших медико-социальных проблем, что обусловлено их высокой долей в структуре заболеваемости, составляющей 65-75%, а также в инвалидизации и смертности населения. В Российской Федерации частота инсультов составляет, по разным данным, 350-400 случаев на 100 тыс. населения. Заболевание может возникнуть в любом возрасте, но в основном наблюдается в возрасте между 50 и 70 годами. Инвалидизация после перенесенного инсульта занимает первое место среди всех причин первичной инвалидности. Социально-экономическая значимость этого заболевания связана еще и с тем, что среди заболевших инсультом 1/3 – люди трудоспособного возраста, а к труду возвращается не более 20% больных. Более того, увеличение частоты инсульта наблюдается за счет возрастания числа больных в работоспособном возрасте – до 64 лет (Гусев Е.И., 2003). Сосудистые заболевания мозга занимают третье место в структуре причин общей смертности, ненамного уступая заболеваниям сердца и онкологическим заболеваниям (Vonita et al., 1994, Скворцова В.И., 2006). В острой стадии инсульта смертность составляет около 35%, увеличиваясь еще на 15% к концу первого года (Суслина З.А. с соавт., 2009). Особого беспокойства не может не вызывать тот факт, что показатели смертности от инсульта в России за последние годы повысились на 18%, достигнув 280 человек на 100 тыс. населения, хотя в других странах идет прогрессивное снижение этой цифры. В зависимости от патоморфологических особенностей, выделяют ишемический инсульт (ИИ), или инфаркт мозга, являющийся следствием резкого ограничения притока крови к головному мозгу, геморрагический инсульт, характеризующийся кровоизлиянием в ткань мозга, подболочечные пространства или в желудочки, а также смешанные инсульты, при которых сочетаются очаги ишемии и геморрагии. На долю ИИ в нашей стране, как и в большинстве стран мира, приходится около 80% всех случаев инсульта (Гусев Е.И. с соавт., 2006). Настоящая работа посвящена исследованию генетической предрасположенности к ИИ.

Известно, что гибель нервной ткани и формирование инфаркта при ИИ являются результатом каскада патобиохимических и патофизиологических процессов (Гусев Е.И. с соавт., 2003). Патогенез мозговой ишемии включает большое количество факторов, таких как гипоксия, реперфузионные повреждения, а также воспалительные реакции, которые, в свою очередь, имея динамический характер, сопровождаются вовлечением различных механизмов на разных стадиях ишемического каскада и играют неоднозначную роль (Гусев Е.И. с соавт., 1999). В развитии мозговой ишемии доказана также важная роль генетических факторов, таких как носительство определенных аллелей генов, кодирующих компоненты различных физиологических систем, в том

числе связанных с воспалительным ответом, и влияющих на уровень белковых продуктов. Таким образом, ИИ в большинстве случаев представляет собой комплексное полигенное заболевание и возникает в результате действия генетических факторов в сочетании с воздействиями внешней среды. Среди механизмов повреждения ткани мозга важную роль играют, как уже упоминалось выше, реакции воспаления. Было показано, что дисбаланс цитокинов и локальная воспалительная реакция в ответ на действие повреждающего фактора (травму, ишемию, кровоизлияние) приводит к повреждению нейронов, гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и нарушениям микроциркуляции. Исследования выявили дисбаланс цитокинового статуса, влияние иммунобиохимических процессов на тяжесть и клинический исход ИИ, а также неоднозначную роль при ИИ некоторых медиаторов воспаления (Харченко Е.П. с соавт., 2007, Lafon et al., 2006, Antonicelli et al., 2005). Поэтому представляет интерес исследование факторов, приводящих к дисбалансу цитокинов и усилению воспалительной реакции при ИИ. Поскольку уровень цитокинов и их функциональная активность во многом определяется генетическими факторами, в настоящей работе мы исследовали ассоциацию с ИИ полиморфизма генов, кодирующих цитокины *IL6*, *TGFBI*, *IL4*, *TNF*, *IFNG* и *LTA*. В работу были включены также гены, кодирующие антиген 4 цитотоксических Т-лимфоцитов и фосфодиэстеразу 4D, – белки, для которых показана роль в развитии воспаления. Выявление связи между полиморфизмом того или иного конкретного гена с развитием ИИ может способствовать пониманию биологической природы заболевания и открыть новые возможности для его профилактики и лечения. Воспаление при ИИ развивается также вследствие усиления свертывающей способности крови (McCull V.W. et al, 2009). Описано влияние цитокинов на синтез фибриногена, уровень которого является одной из важных составляющих развития артериального тромбоза и повышенного риска ИИ (Fuller et al., 2001). Известно, что связывание IL-6 со своим рецептором активирует транскрипционный фактор STAT3, который передает сигнал с рецептора IL-6 в ядро, где связывается с респонсивными элементами промоторных областей всех трех генов, кодирующих субъединицы фибриногена человека (Duan H.O. et al., 2003). Исходя из сказанного, представляло несомненный интерес оценить влияние полиморфизма гена *IL6* на уровень фибриногена и агрегационную активность тромбоцитов в плазме крови.

Степень разработанности темы

За последние годы было проведено немало исследований, посвященных поиску ассоциации различных полиморфных вариантов генов-кандидатов с развитием ИИ для различных этносов. В частности, такие исследования были проведены для населения России. У русских исследовали ассоциации с развитием ИИ полиморфизма генов антиоксидантной и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем (РААС), систем гемостаза, липидного метаболизма и продукции оксида азота (Авдониная с соавт., 2012, Бондаренко с соавт., 2010, Бондаренко с соавт., 2011, Парфенов

М.Г. с соавт., 2009, Тупицына Т.В. с соавт., 2010). Для якутской популяции были проведены исследования полиморфизма генов систем гемостаза, РААС, продукции оксида азота и липидного метаболизма, а также системы метаболизма гомоцистеина (Кобылина О.В. с соавт., 2008, Парфенов М.Г., 2007, Parfenov et al., 2007). Эти исследования показали важность этнической гомогенности исследуемых групп больных и здоровых для выявления факторов риска ИИ. Несмотря на пристальное внимание к этой социально значимой проблеме, вопрос о генетической предрасположенности к ИИ далек от своего решения. Во многом это связано со сложной природой этого комплексного заболевания, в частности, с тем, что в связи с взаимодействием между кодируемыми белковыми продуктами необходимо анализировать совместный вклад большого числа генов.

Цель исследования

Комплексный анализ возможной ассоциации носительства аллелей и генотипов однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов-кандидатов системы воспаления, а также их сочетаний, с развитием ИИ.

Задачи исследования

1. Провести геномное типирование выбранных на основе анализа литературы полиморфных участков генов-кандидатов (*CTLA4*, *IL6*, *TGFB1*, *IL4*, *TNF*, *IFNG*, *LTA* и *PDE4D*) для русских индивидов, перенесших ИИ, а также для индивидов без ИИ в анамнезе, совпадающих с больными по этнической принадлежности, полу и возрасту.
2. Провести анализ ассоциации аллелей и генотипов исследованных генов с развитием ИИ методом «случай-контроль» с использованием «стандартного» статистического анализа на основе точного критерия Фишера.
3. Оценить уровни фибриногена и показателей тромбоцитарного гемостаза в плазме крови в зависимости от носительства вариантов гена *IL6*.
4. Провести анализ ассоциации носительства сочетаний аллелей/генотипов («генетических ансамблей») исследованных генов с развитием ИИ с использованием программного обеспечения (ПО) APSampler.
5. Оценить гендерные и возрастные особенности ассоциации генетических маркеров с предрасположенностью к ИИ.

Научная новизна

Впервые у этнических русских проведен комплексный анализ, с учетом пола и возраста рассматриваемых индивидов, связи носительства аллелей, генотипов и сочетаний аллелей и генотипов полиморфных участков генов *CTLA4*, *IL6*, *TGFB1*, *IL4*, *TNF*, *IFNG*, *LTA* и *PDE4D* с развитием ИИ. Впервые показана ассоциация с развитием ИИ носительства аллелей/генотипов трех полиморфных участков поодиночке: $-174G>C$ гена *IL6*, $-509C>T$ гена *TGFB1* и $87C>T$ гена

PDE4D. Показано, что ассоциации ИИ с аллелями/генотипами каждого из этих участков, выявленные при сравнении общих групп больных и контролей, наблюдаются при стратификации на две подгруппы по полу или по возрасту, по крайней мере, в одной из подгрупп, т.е. сохраняются на подвыборках общей выборки. Аллели или генотипы генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI* входят в состав ассоциированных с ИИ сочетаний, объединяясь, как друг с другом, так и с аллелями других исследованных генов, из которых для *IFNG* и *TNF* тоже наблюдается воспроизведение результатов на подвыборках.

Теоретическая и практическая значимость работы

Исследования последних лет показали, что данные о связи между полиморфизмом отдельного гена и развитием полигенного заболевания способствуют пониманию биологической природы последнего. Обнаруженные в работе ассоциации аллелей и генотипов генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI* и развитием ИИ, с высокой долей вероятности свидетельствуют об участии кодируемых ими медиаторов воспаления в формировании патогенетических событий на различных стадиях, предшествующих ишемии. Наблюдаемый кумулятивный эффект носительства вариантов этих и некоторых других генов системы воспаления отражает полигенную природу ИИ и позволяет предполагать аддитивность вклада рассмотренных генов в предрасположенность к этому заболеванию. Выявленные в работе одиночные аллели и генотипы, а также сочетания аллелей и генотипов, могут служить маркерами для оценки индивидуального риска развития ИИ у этнических русских. Обнаружение подобных маркеров может послужить основой в поиске новых мишеней для превентивной терапии, компенсирующей генетически обусловленные неблагоприятные особенности функционирования системы воспаления для тех лиц, у которых выявлена наследственная предрасположенность к ИИ.

Методология и методы исследования

Работа основана на сравнении частот аллелей и генотипов 11 полиморфных вариантов 8 генов-кандидатов в норме и при ИИ. Для анализа вариантов генома использовали различные современные методы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени. Для выявления значимой связи с ИИ носительства сочетаний аллелей и/или генотипов применяли оригинальное программное обеспечение APSampler (<http://code.google.com/p/apsampler/>), использующее метод Монте-Карло Марковскими цепями и Байесовскую непараметрическую статистику.

Положения, выносимые на защиту

1. Наиболее значимый вклад в развитие ИИ у этнических русских вносят аллели или генотипы генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI*.
2. Ассоциированные с ИИ сочетания представляют собой составные генетические маркеры ИИ как полигенного заболевания, в которых аллели генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI* присутствуют

попарно и/или совместно с аллелями других исследованных генов, а именно генов *IFNG*, *CTLA4*, *IL4* и *TNF*, носительство которых в одиночку не было значимо ассоциировано с ИИ.

3. Распределение в составе сочетаний аллелей/генотипов, выявленное в общей группе, в целом сохраняется при разделении выборок больных ИИ и контрольной группы на мужчин и женщин, тогда как между подгруппами с ранним (не старше 60 лет) и более поздним ИИ наблюдаются существенные различия.
4. Анализ ассоциации носительства аллелей и генотипов полиморфного участка -174G>C гена *IL6* с уровнями фибриногена и показателями тромбоцитарного гемостаза в плазме крови показал, что выявленный вклад гена *IL6* в развитие ИИ, по-видимому, не определяется влиянием его полиморфизма на синтез фибриногена.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Результаты получены современными биохимическими и молекулярно-генетическими методами. Основные выводы работы и выносимые на защиту положения являются обоснованными и полностью соответствуют полученным результатам. Достоверность выводов подтверждается корректной статистической обработкой данных.

Материалы диссертационной работы изложены в 5 работах, которые являются статьями в научных журналах, рекомендованных ВАК. Основные результаты исследования доложены и обсуждены на следующих научных конференциях: XIX Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 2012), Всероссийская научно-практическая конференция «Кардиология в свете новых достижений медицинской науки» (Москва, 2012), Inflammation and Atherosclerosis (Мюнхен, Германия, 2012), III Евразийский конгресс кардиологов (Москва, 2014), VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» (Москва, 2014 год).

Личный вклад автора

Личный вклад автора в работу состоит в участии в сборе коллекции образцов ДНК и ее систематизации, оптимизации некоторых методик генотипирования, планировании и постановке экспериментов, статистической обработке и интерпретации результатов экспериментов.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Работа изложена на 160 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 рисунками и 19 таблицами. Список цитируемой литературы включает 424 источника, из них 43 на русском языке и 381 - на иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Во введении к работе обоснована актуальность изучаемой темы, степень ее

разработанности, сформулированы цели и задачи работы, отражена научная новизна полученных результатов, а также их практическая и теоретическая значимость, сформулированы положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы. В данной главе рассмотрены этиопатогенез, факторы риска, данные о моногенных и полигенных формах ИИ. Также представлены данные, полученные с помощью различных подходов к исследованию предрасположенности к ИИ как полигенному заболеванию. Дано подробное описание полиморфных участков выбранных генов и функции их белковых продуктов.

Материалы и методы. В настоящем ретроспективном исследовании, выполненном методом «случай-контроль», использовали образцы из коллекции крови и геномной ДНК 200 больных ишемическим инсультом (ИИ) русской этнической принадлежности, ср. возраст – 64.1 ± 10.8 лет. Из них 123 мужчины (ср. возраст – 61.2 ± 9.8) и 77 женщин (ср. возраст – 68.7 ± 10.7). Все индивиды, вошедшие в исследование, были обследованы на кафедре неврологии и нейрохирургии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова на базе 12-го и 13-го неврологических отделений ГКБ №1 им. Н.И.Пирогова. Во всех случаях диагноз «ишемический инсульт» был подтвержден результатами КТ и/или МРТ. Через 3-5 дней после прекращения инфузионной терапии (10-14 дни заболевания) у больных ИИ определяли уровень фибриногена в плазме венозной крови (г/л) по методу Рутберга и агрегационную активность тромбоцитов по методу G. Vogt в модификации В.А. Люсова и Ю.Б. Белоусова. Изучались процент изменения оптической плотности плазмы под воздействием адреналина (А тр), размер агрегатов (D агр) и скорость агрегации тромбоцитов ($\angle \alpha$). Интервал между взятием крови и исследованием агрегации составлял 30-40 мин. Те же показатели определяли для контрольной группы при заборе крови.

Контрольная группа состояла из 146 русских без анамнестических и диагностических указаний на стойкие и преходящие нарушения мозгового кровообращения, ср. возраст – 61.8 ± 12.3 лет. Из них 83 мужчины (ср. возраст – 57.1 ± 11.9 лет) и 63 женщины (ср. возраст – 63.2 ± 14.2 лет). От всех больных или их родственников, а также индивидов контрольной группы получено информированное согласие на проведение исследования.

Для получения ДНК необходимой чистоты и достаточной молекулярной массы применяли модифицированный метод выделения ДНК из крови с использованием экстракции смесью фенол-хлороформ. Методы геномного типирования различных полиморфных участков представлены в таблице 1.

У всех индивидов, составивших контрольную группу и группу больных, определяли частоты аллелей, частоты носительства аллелей и генотипов. Анализ отклонения наблюдаемых частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга и анализ неравновесия по сцеплению (LD) проводили с

использованием свободно распространяемой программы Haploview 4.0 (<http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview>). Сравнение частот аллелей, частот носительства аллелей и генотипов у больных ИИ и в контрольной группе проводили с помощью точного двустороннего критерия Фишера с использованием онлайн-версии программы GraphPad InStat (<http://www.graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>). Силу выявленных ассоциаций оценивали в значениях отношения шансов (ОШ) и его 95%-го доверительного интервала (ДИ) с использованием этой же программы. Статистически значимым считали различие сравниваемых величин при $p < 0.05$, при условии, что значения 95% ДИ для ОШ не пересекают 1. Для сравнения концентраций фибриногена и агрегационной активности тромбоцитов в различных группах использовали непараметрический тест Манна-Уитни.

Таблица 1. Исследуемые полиморфные участки генов системы воспаления и использованные методы геномного типирования

Ген	Хромосомная локализация	Белковый продукт	Полиморфизм	Функциональная значимость полиморфизма	Метод геномного типирования*
<i>CTLA4</i>	2q33	Антиген 4 цитотоксических Т-лимфоцитов	49A>G	Аллель G - ↑ уровня активации лимфоцитов	ПЦР-ПДРФ
<i>PDE4D</i>	5q12	Фосфодиэстераза 4D	41G>A	Неизвестна	РТ-ПЦР
			87C>T	Неизвестна	РТ-ПЦР
<i>IL4</i>	5q31.1	Интерлейкин-4	-590C>T	Генотип CC - ↑ уровня белка	ПЦР SSP
<i>TNF</i>	6p21.3	Фактор некроза опухоли	-308G>A	Аллель A - ↑ уровня белка	ПЦР SSP
<i>LTA</i>	6p21.3	Лимфотоксин-альфа	252A>G	Аллель G - ↑ уровня белка	ПЦР-ПДРФ
<i>IL6</i>	7p21	Интерлейкин-6	-174G>C	Аллель C - ↑ уровня белка	ПЦР-ПДРФ
<i>IFNG</i>	12q14	Интерферон гамма	874A>T	Аллель T - ↑ уровня белка	ПЦР SSP
<i>TGFB1</i>	19q13.1	Трансформирующий фактор роста бета-1	-509C>T	Аллель T - ↑ уровня белка	ПЦР SSP
			869T>C (Leu10Pro)	Аллель T - ↑ уровня белка	ПЦР SSP
			915G>C (Arg25Pro)	Генотип GG - ↑ уровня белка	ПЦР SSP

* ПЦР - полимеразная цепная реакция, РТ-ПЦР – ПЦР в реальном времени, ПЦР-ПДРФ - анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продукта ПЦР, ПЦР SSP - ПЦР с аллелеспецифическими праймерами.

Для выявления значимой связи с заболеванием носительства сочетания аллелей/генотипов («генетических ансамблей»), содержащих n аллелей и/или генотипов (где $n \geq 1$), применяли оригинальное ПО APSampler, использующее метод Монте-Карло Марковскими цепями и Байесовскую непараметрическую статистику (Favorov et al., 2005). APSampler проводит также валидацию результатов работы алгоритма на основе традиционного статистического подхода, для чего в программный комплекс включена программа, которая оценивает значимость ассоциаций каждого найденного основным алгоритмом сочетания аллелей/генотипов с признаком по

значениям точного критерия Фишера, ОШ и его 95%-го ДИ. В этом случае мы применяли односторонний точный критерий, поскольку программа APSampler вместе с сочетанием аллелей указывает также и знак наблюдаемой ассоциации. Различие сравниваемых частот считали значимыми при $p < 0.05$, если значения 95% ДИ для ОШ не пересекали 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Анализ ассоциации полиморфных участков исследуемых генов с развитием ИИ

В работе проведено геномное типирование следующих полиморфных участков (см. таблицу 1): 49A>G гена *CTLA4* (цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4), 41G>A и 87C>T гена *PDE4D* (фосфодиэстераза 4D), -590C>T гена *IL4* (интерлейкин 4), -308A>G гена *TNF* (фактор некроза опухолей), 252G>A гена *LTA* (лимфотоксин α), -174G>C гена *IL6* (интерлейкин 6), 874A>T гена *IFNG* (интерферон γ), -509C>T, 869T>C и 915G>C гена *TGFBI* (трансформирующий фактор роста $\beta 1$), с последующим сравнением частот аллелей, частот носительства (встречаемости) аллелей и частот генотипов в группе пациентов с ИИ и в контрольной группе, все русские по этнической принадлежности. Для анализа были выбраны функционально значимые полиморфные участки, расположенные в кодирующей или в регуляторной областях анализируемых генов. Отклонений распределения наблюдаемых частот генотипов всех исследуемых полиморфных участков в контрольной группе от равновесия Харди-Вайнберга не наблюдалось.

Исходя из предположения, что развитие инсульта в разном возрасте может быть связано с разными генетическими факторами, мы провели анализ распределения носительства аллелей и генотипов того или иного полиморфного участка у больных в зависимости от возраста развития ИИ. При этом больные ИИ были поделены на две подгруппы: лица, заболевшие ИИ в возрасте старше 60 лет и в возрасте моложе или равном 60 лет. Контрольная группа была разделена по возрасту на аналогичные подгруппы. По эпидемиологическим данным у мужчин в возрастной группе до 60 лет инсульт встречается чаще, чем у женщин. Предположив, что это различие может определяться сцепленным с полом генетическим компонентом, мы провели также сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов исследуемых полиморфных участков у больных ИИ и здоровых отдельно для мужчин и для женщин.

Для полиморфных участков 49A>G гена *CTLA4*, -590C>T гена *IL4*, -308A>G гена *TNF*, 252A>G гена *LTA*, 869T>C гена *TGFBI* не было выявлено значимых различий в частотах аллелей, частотах носительства аллелей и генотипов ни в общих группах больных ИИ и контролей, ни в их подгруппах.

1.1. Полиморфный участок -174G>C гена интерлейкина 6 (*IL6*). Выявлено, что частота аллеля *IL6**-174G значимо выше, а аллеля *IL6**-174C - ниже у больных ИИ в сравнении с группой контроля ($p=0.037$, ОШ=1.39, 95%ДИ:1.02-1.91 и ОШ=0.71, 95%ДИ:0.52-0.97, соответственно).

Частота носительства аллеля *IL6**-174G также значимо выше у больных ($p=0.003$, ОШ=2.87, 95%ДИ:1.43-5.75), что позволяет считать его аллелем риска ИИ (таблица 2).

При разделении группы больных ИИ и контрольной группы по гендерному признаку значимые различия в частоте аллелей, частоте носительства аллелей и генотипов были выявлены только среди женщин. Наблюдалась более высокая частота аллеля *IL6**-174G ($p=0.02$, ОШ=1.82, 95%ДИ: 1.12-2.97) и носительства этого аллеля ($p=0.011$, ОШ=4.20, 95%ДИ: 1.40-12.40) в подгруппе больных ИИ женщин в сравнении с женщинами из контрольной группы и, соответственно, более высокая частота аллеля *IL6**-174C ($p=0.02$, ОШ=0.55, 95%ДИ: 0.33-0.90) и генотипа *IL6**-174C/C ($p=0.011$, ОШ=0.23, 95%ДИ: 0.08-0.70) в контрольной группе (таблица 3). Таким образом, наблюдается половой диморфизм в распределении генотипов гена *IL6* у больных ИИ и здоровых.

Таблица 2. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка -174G>C гена *IL6* у лиц русской этнической принадлежности, перенесших ИИ, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности

Аллели / генотипы	Больные ИИ n=200	Группа контроля n=140	Значение p	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)				
C	141(35)	121(43)	0.037	0.71 (0.52-0.97)
G	259(65)	159(57)	0.037	1.39 (1.02-1.91)
Аллели, число (%) носителей				
C	126(63,2)	96(69)	н.з.	
G	186(93)	115(82)	0.003	2.87 (1.43-5.75)
Генотипы, число (%) носителей				
C/C	14(7)	25(18)	0.003	0.34 (0.17-0.69)
C/G	113(56,2)	71(51)	н.з.	
G/G	73(36,8)	44(31)	н.з.	

Здесь и далее: н.з. – не выявлено значимых различий; ОШ (95% ДИ) приведены только для значений $p < 0.05$ (даны жирным шрифтом)

Таблица 3. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка -174G>C гена *IL6* у лиц русской этнической принадлежности, перенесших ИИ, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности в зависимости от гендерного признака

Аллели / генотипы	мужчины				женщины			
	Больные ИИ n=123	Группа контроля n=78	Значение p	ОШ (95% ДИ)	Больные ИИ n=77	Группа контроля n=62	Значение p	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)								
C	91(37)	63(40)	н.з.		50(32)	58(47)	0.02	0.55(0.33-0.90)
G	145(63)	93(60)	н.з.		104(68)	66(53)	0.02	1.82(1.12-2.97)
Аллели, число (%) носителей								
C	82(67)	52(67)	н.з.		45(59)	44(71)	н.з.	
G	114(93)	67(86)	н.з.		72(93)	48(77)	0.011	4.20(1.40-12.40)
Генотипы, число (%) носителей								
C/C	9(7)	11(14)	н.з.		5(7)	14(23)	0.011	0.23(0.08-0.70)
C/G	73(59)	41(53)	н.з.		40(52)	30(48)	н.з.	
G/G	41(34)	26(33)	н.з.		32(41)	18(29)	н.з.	

Больные ИИ были разделены также на две подгруппы по возрасту: лица, перенесшие ИИ в возрасте старше 60 лет и моложе или равном 60 лет (таблица 4). При сравнении с лицами

контрольной группы той же возрастной категории у пациентов в группе старше 60 лет выявлена позитивная ассоциация с ИИ носительства аллеля *IL6*–174G* ($p=0.003$, ОШ=3.80, 95%ДИ: 1.60-9.20) и негативная – генотипа *IL6*–174C/C* ($p=0.003$, ОШ=0.26, 95%ДИ: 0.11-0.62). Значимых ассоциаций аллелей и генотипов гена *IL6* у лиц более молодого возраста (моложе или равном 60 лет) не наблюдали.

Таблица 4. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка –174G>C гена *IL6* у лиц русской этнической принадлежности, получивших ИИ в возрасте ≤ 60 лет и >60 лет, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности тех же возрастных категорий

Аллели / генотипы	лица в возрасте моложе или равном 60 лет				лица старше 60 лет			
	Больные ИИ n=67	Группа контроля n=67	Значение <i>p</i>	ОШ (95% ДИ)	Больные ИИ N=133	Группа контроля n=73	Значение <i>p</i>	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)								
C	46(34)	56(39)	н.з.		95(36)	65(44)	н.з.	
G	88(90)	78(61)	н.з.		171(64)	81(56)	н.з.	
Аллели, число (%) носителей								
C	41(62)	47(72)	н.з.		86(65)	49(67)	н.з.	
G	62(94)	58(81)	н.з.		124(93)	57(78)	0.003	3.80(1.60-9.20)
Генотипы, число (%) носителей								
C/C	5(6)	9(19)	н.з.		9(7)	16(22)	0.003	0.26(0.11-0.62)
C/G	36(56)	38(53)			77(58)	33(45)	н.з.	
G/G	26(38)	20(28)	н.з.		47(35)	24(33)	н.з.	

Результаты, полученные для общих выборок больных ИИ и контрольных индивидов, находятся в полном соответствии с данными для подгрупп, разделенных по полу и возрасту. Во всех случаях более распространенный аллель *IL6*–174G* является аллелем риска ИИ. Это хорошо согласуется с данными литературы (Fishman et al., 1998, Walston et al., 2007): показано, что данный аллель ассоциирован с более высоким уровнем цитокина, что в свою очередь приводит к усилению атерогенеза. При этом наблюдаемые для общей группы больных ИИ и контрольной группы различия в частотах аллелей и генотипов полиморфного участка –174G>C гена *IL6* обусловлены в большей степени генетическим статусом женщин, а не мужчин, и проявляются более отчетливо, как видно из сравнения значений *p* и ОШ, в возрастной подгруппе старше 60 лет.

1.2. Полиморфные участки SNP41G>A и SNP87C>T гена фосфодиэстеразы 4D (*PDE4D*).

Значения *p*, характеризующие различия в частоте носительства аллеля *PDE4D*41G* и генотипа *PDE4D*41A/A*, достигали уровня значимости ($p=0.049$), однако значения ДИ при ОШ в обоих случаях пересекали 1. В то же время, частоты носительства аллеля *PDE4D*87C* и генотипа *PDE4D*87T/T* значимо различались у больных ИИ и в контрольной группе по обоим критериям; частота носительства аллеля *PDE4D*87C* была выше в группе больных ИИ ($p=0.048$, ОШ=1.60, 95%ДИ: 1.02-2.52), а, соответственно, в контрольной группе была выше частота генотипа *PDE4D*87T/T* ($p=0.048$, ОШ=0.62, 95%ДИ: 0.40-0.98) (таблица 5). При разделении группы больных ИИ и контрольной группы по гендерному признаку между подгруппами мужчин и

женщин не было выявлено значимых различий в частоте аллелей, частоте носительства аллелей и генотипов обоих полиморфных участков. Сравнительный анализ в зависимости от возраста выявил, что у пациентов, перенесших ИИ в возрасте не старше 60 лет, частота аллеля *PDE4D**41A значимо выше, а аллеля *PDE4D**41G - ниже у больных ИИ в сравнении с группой контроля того же возраста ($p=0.0063$, ОШ= 1.54, 95%ДИ: 1.20-1.98, и ОШ= 0.64, 95%ДИ: 0.50-0.83, соответственно). Также нами была выявлена положительная ассоциация с ИИ частоты носительства аллеля *PDE4D**41A ($p=0.015$, ОШ=1.58, 95%ДИ: 1.15-2.2) и негативная ассоциация генотипа *PDE4D**41G/G ($p=0.015$, ОШ= 0.63, 95%ДИ: 0.45-0.86). Таким образом, мы наблюдали, что у пациентов, с ИИ, развившимся в возрасте до 60 лет включительно, аллель *PDE4D**41A является значимым аллелем риска ИИ (таблица 6).

Таблица 5. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка SNP87C>T гена *PDE4D* у лиц русской этнической принадлежности, перенесших ИИ, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности

Аллели / генотипы	Больные ИИ n=200	Группа контроля n=146	Значение p	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)				
T	217(54,25)	174(59,6)	н.з.	
C	183(45,75)	118(40,4)	н.з.	
Аллели, число (%) носителей				
T	161(80,5)	118(80)	н.з.	
C	144(72)	90(62)	0.048	1.6 (1.02-2.52)
Генотипы, число (%) носителей				
T/T	56(28)	56(38)	0.048	0.62 (0.40-0.98)
C/T	105(52,5)	62(42)	н.з.	
C/C	39(19,5)	28(20)	н.з.	

Таблица 6. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка SNP41G>A гена *PDE4D* у лиц русской этнической принадлежности, получивших ИИ в возрасте ≤ 60 лет и >60 лет, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности тех же возрастных категорий

Аллели / генотипы	лица в возрасте моложе или равном 60 лет				лица старше 60 лет			
	Больные n=67	Группа контроля n=69	Значение p	ОШ (95% ДИ)	Больные n=133	Группа контроля n=76	Значение p	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)								
A	25(18)	10(7)	0.0063	1.54 (1.2-1.98)	42(16)	15(10)	н.з.	
G	110(82)	128(93)	0.0063	0.64 (0.50-0.83)	224(84)	137(90)	н.з.	
Аллели, число (%) носителей								
A	22(32)	10(14)	0.015	1.58 (1.15-2.2)	36(27)	14(18)	н.з.	
G	64(96)	69(100)	н.з.		127(95)	75(99)	н.з.	
Генотипы, число (%) носителей								
A/A	3(4)	0(0)	н.з.		6(5)	1(1)	н.з.	
A/G	19(28)	10(14)	н.з.		30(22)	13(17)	н.з.	
G/G	45(68)	59(86)	0.015	0.63 (0.45-0.86)	97(73)	62(82)	н.з.	

Ассоциацию этого аллеля с острым инсультом в московской популяции наблюдали также в работе (Бондаренко Е.А. с соавт. 2010). Выявленные ассоциации с ИИ можно объяснить ролью фосфодиэстеразы 4D при дестабилизации атеросклеротической бляшки и регуляции проницаемости ГЭБ (Folcik et al., 1999, Lusic et al., 2002). Сравнение частот аллелей, носительства

аллелей и генотипов полиморфного участка SNP87C>T гена *PDE4D* при разделении на подгруппы по возрасту не выявило значимых различий. Выбранные полиморфные участки SNP87C>T и SNP41G>A гена *PDE4D* относятся к гапблокам А и В этого гена, соответственно, (Gretarsdottir et al., 2003), а исследования на различных популяциях не выявили между ними сцепления (Kuhlenbäumer et al., 2006, Staton et al., 2006, Sun et al., 2009).

1.3. Полиморфные участки –509C>T, 869T>C и 915G>C гена трансформирующего фактора роста β 1 (*TGFBI*). Для полиморфных участков 869T>C и 915G>C гена *TGFBI* достоверных отличий в частотах аллелей, а также в частотах носительства аллелей и генотипов между группами больных ИИ и здоровыми индивидами обнаружено не было. При сравнении частот носительства аллелей и генотипов полиморфного участка –509C>T гена *TGFBI* (таблица 7) выявлено значимое различие в частоте носительства аллеля *TGFBI**–509C, которая в контрольной группе была выше ($p=0.02$, ОШ=0.43, 95%ДИ: 0.20-0.92). Соответственно, в группе больных ИИ генотип *TGFBI**–509T/T встречался значимо чаще, чем в контроле ($p=0.02$, ОШ=2.30, 95%ДИ: 1.08-4.89). Известно, что носительство этого генотипа связано с высоким уровнем триглицеридов в плазме и может способствовать росту атеротромботической бляшки, сужению просвета сосудов и развитию ишемических процессов (Peng et al., 2011).

Таблица 7. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка –509C>T гена *TGFBI* у лиц русской этнической принадлежности, перенесших ИИ, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности

Аллели / генотипы	Больные ИИ n=200	Группа контроля n=146	Значение p	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)				
С	257(64,25)	202(69)	н.з.	
Т	143(35,75)	90(31)	н.з.	
Аллели, число (%) носителей				
С	171(85,5)	136(93)	0.02	0.43 (0.20-0.92)
Т	114(57)	80(55)	н.з.	
Генотипы, число (%) носителей				
С/С	86(43)	66(45)	н.з.	
С/Т	85(42,5)	70(48)	н.з.	
Т/Т	29(14,5)	10(7)	0.02	2.30 (1.08-4.89)

При разделении общей группы по гендерному признаку была выявлена ассоциация ИИ только с полиморфным участком 915G>C гена *TGFBI* (таблица 8). В подгруппе мужчин, перенесших ИИ, наблюдалась более высокая частота аллеля *TGFBI**915G ($p=0.0032$, ОШ=3.23, 95%ДИ: 1.47-7.1) и носительства генотипа *TGFBI**915G/G ($p=0.0022$, ОШ=3.58, 95%ДИ: 1.59-8.14). Соответственно в группе контроля была выявлена негативная ассоциация с ИИ аллеля и носительства аллеля *TGFBI**915C ($p=0.0032$, ОШ=0.31, 95%ДИ: 0.14-0.68 и $p=0.0022$, ОШ=0.28, 95%ДИ: 0.12-0.63, соответственно). При разделении общей группы по возрасту ни для одного из выбранных полиморфных участков не было выявлено значимых ассоциаций с ИИ. Учитывая, что выбранные полиморфные участки расположены в гене *TGFBI* достаточно близко друг от друга,

мы провели анализ их неравновесия по сцеплению с использованием программы Haploview 4.0 для контрольной группы, так как уравнение Харди-Вайнберга в ней соблюдалось для всех, включенных в исследование, полиморфных участков. Не выявлено ни одного распространенного гаплотипа, в который бы входили рассматриваемые аллели выбранных SNPs.

Таблица 8. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка 915G>C гена *TGFBI* у лиц русской этнической принадлежности, перенесших ИИ, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности в зависимости от гендерного признака

Аллели / генотипы	мужчины				женщины			
	Группа больных n=123	Группа контроля n=83	Значение <i>p</i>	ОШ (95% ДИ)	Группа больных n=77	Группа контроля n=63	Значение <i>p</i>	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)								
C	10(4)	20(12)	0.0032	0.31(0.14-0.68)	14(9)	8(6)	н.з.	
G	236(96)	146(88)	0.0032	3.23(1.47-7.10)	140(91)	118(94)	н.з.	
Аллели, число (%) носителей								
C	10(8)	20(24)	0.0022	0.28(0.12-0.63)	14(18)	7(12)	н.з.	
G	123(100)	83(100)	н.з.		77(100)	62(98)	н.з.	
Генотипы, число (%) носителей								
C/C	0(0)	0(0)	н.з.		0(0)	1(2)	н.з.	
C/G	10(8)	20(24)	н.з.		14(18)	6(10)	н.з.	
G/G	113(92)	63(76)	0.0022	3.58(1.59-8.14)	63(82)	56(88)	н.з.	

Таким образом, можно заключить, что аллели выбранных полиморфных участков вносят независимый вклад в предрасположенность к ИИ, что хорошо согласуется с наблюдаемой картиной их ассоциации с этим заболеванием. В то же время, данные исследований (Syrtis et al., 1998, Sie et al., 2006, Tao et al., 2012), проведенных на других популяциях европеоидов, свидетельствуют о неравновесном сцеплении этих полиморфных участков друг с другом. Можно предположить, что подобные различия связаны с этноспецифичностью гаплотических блоков (de Bakker et al., 2005).

1.4. Полиморфный участок 874A>Т гена интерферона гамма (*IFNG*). Достоверных отличий в частотах аллелей, а также в частотах носительства аллелей и генотипов полиморфного участка 874A>Т гена *IFNG* между больными ИИ и здоровыми индивидами, а также при разделении этих групп по гендерному признаку, обнаружено не было. Однако, при сравнении этих характеристик в группах больных ИИ и здоровых индивидов в возрасте старше 60 лет были получены данные, свидетельствующие об ассоциации данного полиморфного участка с «пожилым» ИИ (таблица 9). Выявлено, что аллель *IFNG**874Т и его носительство были положительно ассоциированы с ИИ ($p=0.014$, ОШ=1.74, 95%ДИ: 1.13-2.67 и $p=0.027$, ОШ=2.03, 95%ДИ: 1.10-3.73, соответственно), тогда как для аллеля *IFNG**874А и генотипа *IFNG**874А/А наблюдалась негативная ассоциация с ИИ ($p=0.014$, ОШ= 0.57, 95%ДИ: 0.37-0.88 и $p=0.027$, ОШ= 0.49, 95%ДИ: 0.26-0.90). Для возрастных групп до 60 лет включительно значимых ассоциаций не наблюдали. Таким образом, наше исследование показало, что аллель *IFNG**874Т ассоциирован с развитием ИИ в возрасте старше 60 лет. Как было показано ранее (Pravica et al., 2000),

носительство аллеля *IFNG**874Т приводит к усилению синтеза коллагена в бляшке и таким образом к ее росту.

Таблица 9. Частоты аллелей и носительства аллелей и генотипов полиморфного участка 874А>Т гена *IFNG* у лиц русской этнической принадлежности, получивших ИИ в возрасте ≤ 60 лет и >60 лет, в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности тех же возрастных категорий

Аллели / генотипы	лица в возрасте моложе или равном 60 лет				лица старше 60 лет			
	Группа больных n=67	Группа контроля n=57	Значение <i>p</i>	ОШ (95% ДИ)	Группа больных n=126	Группа контроля n=70	Значение <i>p</i>	ОШ (95% ДИ)
Аллели, число (%)								
А	81(60)	64(56)	н.з.		134(53)	93(66)	0.014	0.57 (0.37-0.88)
Т	53(40)	26(44)	н.з.		118(47)	47(34)	0.014	1.74 (1.13-2.67)
Аллели, число (%) носителей								
А	54(83)	45(79)	н.з.		98(77)	62(88)	н.з.	
Т	40(58)	38(67)	н.з.		90(72)	39(56)	0.027	2.03 (1.10-3.73)
Генотипы, число (%) носителей								
А/А	27(42)	19(33)	н.з.		36(28)	31(44)	0.027	0.49 (0.26-0.90)
А/Т	27(41)	26(46)	н.з.		62(49)	31(44)	н.з.	
Т/Т	13(17)	12(21)	н.з.		28(23)	8(12)	н.з.	

Таким образом, при различных типах сравнения больных ИИ и индивидов контрольной группы (общие группы, только мужчины, только женщины, отдельно лица не старше 60 лет и лица старше 60 лет), нами выявлены индивидуальные аллели риска и показана ассоциация с ИИ генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI* (таблица 10). Аллель *IL6**-174G оказался аллелем риска не только в общей группе, но и при разбиении как по полу (у женщин), так и возрасту (у лиц старше 60 лет).

Таблица 10. Индивидуальные аллели риска, выявленные при сравнении больных ИИ и индивидов контрольной группы: общих групп, только мужчин, только женщин, отдельно лиц не старше 60 лет и лиц старше 60 лет

Полиморфизм	Аллель риска ИИ	Общие группы	Мужчины	Женщины	Лица не старше 60 лет	Лица старше 60 лет
<i>IL6</i> -174G>C	G	+		+		+
<i>PDE4D</i> 41G>A	A				+	
<i>PDE4D</i> 87C>T	C	+				
<i>TGFBI</i> -509C>T	T	+				
<i>TGFBI</i> 915G>C	G		+			
<i>IFNG</i> 874A>T	T					+

Примечание: «+» показывает, при каком типе сравнения больных ИИ с индивидами контрольной группы выявлен аллель риска.

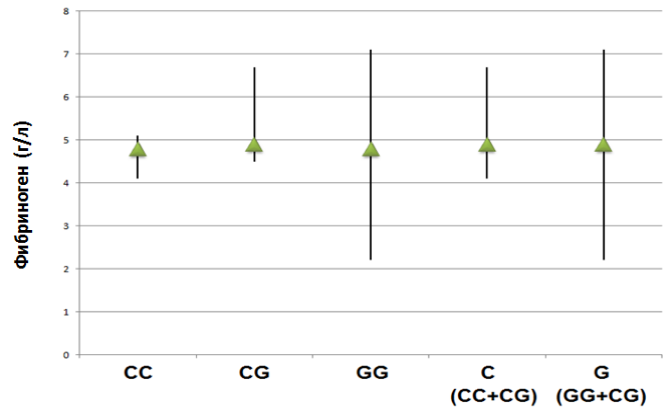
Аллель *PDE4D**41G был выявлен как аллель риска только в подгруппе лиц не старше 60 лет, а аллель *PDE4D**87C – только в общей группе. Что касается гена *TGFBI*, то в общей группе была выявлена ассоциация ИИ с аллелем *TGFBI**-509Т, а при разделении по полу – с аллелем другого полиморфного участка *TGFBI**915G у мужчин. Для гена *IFNG* наблюдали ассоциацию с ИИ только в подгруппе лиц старше 60 лет.

2. Анализ ассоциации полиморфизма -174G>C гена *IL6* с уровнями фибриногена и показателями тромбоцитарного гемостаза в плазме крови.

Исходя из данных, что IL-6 регулирует синтез фибриногена (Duan H.O. et al., 2003), а аллель-

ный полиморфизм гена *IL6* влияет на уровень продукта (Walston J.D. et al., 2007), мы провели сравнение уровня фибриногена у носителей различных вариантов полиморфного участка $-174G>C$ гена *IL6*. Анализ проводили в объединенной группе из 127 человек, независимо от их статуса больной ИИ/здоровый. Сравнение по критерию Манна-Уитни не выявило значимых различий в концентрациях фибриногена в плазме крови у носителей различных аллелей и генотипов полиморфного участка $-174G>C$ (рис.1). Анализ агрегации тромбоцитов под воздействием адреналина, размера тромбоцитарных агрегатов и скорости агрегации тромбоцитов также не выявил значимых различий между носителями различных вариантов гена *IL6*.

Рисунок 1. Сравнение концентраций фибриногена в плазме крови носителей различных аллелей и генотипов полиморфного участка $-174G>C$ гена *IL6* среди 127 индивидов (независимо от статуса больной/здоровый)



3. Анализ ассоциации сочетаний аллелей и генотипов полиморфных участков генов *CTLA4*, *PDE4D*, *IL4*, *TNF*, *LTA*, *IL6*, *IFNG* и *TGFBI* с использованием алгоритма APSampler.

Первоначально комплексный анализ с помощью ПО APSampler, использующего динамический метод Монте-Карло, был проведен нами для выявления совместного вклада в предрасположенность к ИИ ряда генов системы гемостаза, липидного метаболизма и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Была показана ассоциация носительства аллелей и генотипов полиморфных участков генов *APOE* ($-491A>T$ и $-427T>C$), *CMA1* ($-1903G>A$), *FGB* ($-249C>T$ и $-148C>T$) и *LPL* ($495T>G$, $1595C>G$) в составе би- и триаллельных сочетаний с развитием ИИ, тогда как поодиночке ассоциация с ИИ наблюдалась только для полиморфных участков гена *APOE*. Это исследование продемонстрировало преимущества подхода, основанного на анализе совместного вклада генов в предрасположенность к ИИ как к полигенному заболеванию, определяемые высокой статистической мощностью такого анализа.

Проведен аналогичный анализ совместного вклада в предрасположенность к ИИ возможных сочетаний аллелей или генотипов исследуемых генов системы воспаления. Анализ проводили как на полных выборках больных ИИ и индивидов контрольной группы, так и в подгруппах, сформированных по половому и гендерному признакам: только мужчин, только женщин, отдельно лиц не старше 60 лет и лиц старше 60 лет. Ассоциации с ИИ, выявленные на полных выборках больных ИИ и индивидов контрольной группы, приведены в таблице 11. Обнаружены сочетания из двух и трех аллелей/генотипов различных генов, частота носительства которых значимо ($p<0.01$, 95% ДИ для ОШ не пересекает 1), различается у больных ИИ и в контрольной группе.

Таблица 11. Ассоциация сочетаний аллелей и генотипов полиморфных участков исследованных генов при сравнении больных ИИ и индивидов контрольной группы (общие группы)

Аллели/генотипы в составе сочетания									Носители (%) /носители (%) сочетания		Величина <i>p</i>	ОШ (95% ДИ)
* <i>IL6</i> -174G>C	* <i>PDE4D</i> 41G>A	* <i>PDE4D</i> 87C>T	* <i>TGFBI</i> -509C>T	<i>TGFBI</i> 915G>C	<i>IFNG</i> 874A>T	<i>CTLA4</i> 49A>G	<i>IL4</i> -590C>T	<i>TNF</i> -308A>G	ИИ n=200	Контроли n=146		
Носительство сочетания из двух аллелей/генотипов												
C/C					A				9(5)/184(95)	22(17)/104(83)	0.0002	0.23(0.10-0.52)
G				G/G					163(82)/36(18)	91(65)/49(35)	0.0003	2.44(1.47-4.02)
C/C								G	14(7)/184(93)	25(19)/104(81)	0.0008	0.31(0.16-0.63)
C/C			C						12(8)/187(92)	24(17)/116(83)	0.0011	0.31(0.15-0.64)
	G		C						163(81)/37(19)	134(92)/11(8)	0.002	0.36(0.17-0.73)
		C	T/T						21(11)/179(89)	4(3)/142(97)	0.004	4.16(1.40-12.40)
		C		G/G					127(63)/73(37)	74(51)/72(49)	0.010	1.7(1.10-2.60)
Носительство сочетания из трех аллелей												
			C				C	G	154(78)/44(22)	114(89)/14(11)	0.0061	0.43(0.22-0.82)
			C			A	C		114(57)/85(43)	99(71)/41(29)	0.0078	0.55(0.35-0.88)

Жирным шрифтом выделены аллели/генотипы и сочетания с ОШ>1

Эти сочетания отвечают критерию минимального множества аллелей как фактора генетического риска. Под этим понимается, что любой входящий в сочетание аллель/генотип характеризуется меньшей значимостью ассоциации, чем сочетание, а добавление к сочетанию каких-либо дополнительных аллелей не увеличивает значимости его ассоциации с заболеванием (т.е. не уменьшает величины *p*). Аллели/генотипы полиморфных участков -174G>C гена *IL6*, 87C>T гена *PDE4D* и -509C>T гена *TGFBI*, поодиночке значимо ассоциированные с ИИ при сравнении общих групп, выявлены в составе таких сочетаний с аллелями/генотипами генов *IFNG*, *CTLA4*, *IL4* и *TNF*, носительство которых в одиночку при таком сравнении не было значимо ассоциировано с ИИ. Кроме того, в состав ассоциированных с ИИ сочетаний вошло еще по одному полиморфному участку генов *PDE4D* 41G>A и *TGFBI* 915G>C. С риском развития ИИ наиболее сильно ассоциировано сочетание *IL6**-174G + *TGFBI**915G/G (*p*=0.0003, ОШ=2.44, 95% ДИ: 1.47-4.02). Два других предрасполагающих сочетания несут аллель *PDE4D**87C. Это сочетания *PDE4D**87C + *TGFBI**-509T/T (*p*=0.004, ОШ=4.16, 95% ДИ: 1.4-12.4) и *PDE4D**87C + *TGFBI**915G/G (*p*=0.01, ОШ=1.7, 95% ДИ: 1.1-2.6). Большая часть выявленных сочетаний, чаще встречающихся в контрольной группе и таким образом отрицательно ассоциированных с ИИ (ОШ<1), несет генотип *IL6**-174C/C или аллель - *TGFBI**-509C. Наиболее значимыми протективными сочетаниями являются *IL6**-174C/C + *IFNG**874A (*p*=0.0002, ОШ=0.23, 95% ДИ: 0.10-0.52) и *IL6**-174C/C + *TNF**-308G (*p*=0.0008, ОШ=0.3, 95% ДИ: 0.16-0.63).

Сочетания, содержащие аллель *TGFBI**-509C, имеют несколько большую величину *p* (от 0.0011 до 0.0078) и, следовательно, менее выраженное протективное действие. Это биаллельные сочетания *TGFBI**-509C + *IL6**-174C/C (*p*=0.0011, ОШ=0.31, 95% ДИ: 0.15-0.64) и *TGFBI**-509C + *PDE4D**41G (*p*=0.002, ОШ=0.36, 95% ДИ: 0.17-0.73) и триаллельные сочетания *TGFBI**-509C + *TNF**-308G + *IL4**-590C (*p*=0.0061, ОШ=0.43, 95% ДИ: 0.22-0.82) и *TGFBI**-509C + *IL4**-590C + *CTLA4**49A (*p*=0.0078, ОШ=0.55, 95% ДИ: 0.35-0.88). Таким образом, комплексный анализ позволил выявить кумулятивный эффект SNPs ряда генов на развитие ИИ. При этом полиморфные участки -174G>C гена *IL6*, -509C>T гена *TGFBI* и 87C>T гена *PDE4D*, ассоциированные с ИИ поодиночке, вносят более весомый вклад в генетическую предрасположенность к ИИ. Другие полиморфные локусы, выявленные только в составе сочетаний, вносят более слабый вклад. Во всех случаях, когда в составе различных сочетаний выявляются оба аллеля однонуклеотидного полиморфизма (SNP), соблюдается закономерность: аллель, входящий в протективное сочетание, является альтернативным для аллеля из предрасполагающего сочетания. Выявленные сочетания представляют собой составные генетические маркеры ИИ как полигенного заболевания.

При разделении выборки больных ИИ и контрольной группы по гендерному признаку с последующим комплексным анализом в подгруппах и мужчин и женщин были выявлены только биаллельные сочетания. Кроме того, наблюдались некоторые другие отличия от результатов сравнения общих групп. При сравнении подгрупп мужчин, точно так же как при сравнении общих групп, выявлено наиболее значимо позитивно ассоциированное с ИИ сочетание *IL6**-174G + *TGFBI**915G/G (*p*=0.00025, ОШ=3.425, 95% ДИ: 1.75-6.8). Также наблюдаются предрасполагающие сочетания *PDE4D**41A + *PDE4D**87C (*p*=0.008, ОШ=2.73, 95% ДИ: 1.22-6.10) и *IL6**-174G/G + *PDE4D**41A (*p*=0.02, ОШ=4.8, 95% ДИ: 1.06-21.80). Негативно с развитием ИИ у мужчин ассоциировано носительство сочетаний: *TGFBI**915C + *TNF**-308G (*p*=0.00075, ОШ=0.25, 95% ДИ: 0.11-0.57) и *PDE4D**41G + *TGFBI**-509C (*p*=0.023, ОШ=0.38, 95% ДИ: 0.15-0.94). Таким образом, у мужчин в состав ассоциированных с ИИ сочетаний входят 5 полиморфных участков 3 генов, все из которых были выявлены при сравнении общих групп больных ИИ и здоровых. В состав сочетаний входят также аллели или генотипы SNP *TGFBI**915 C>G, которые поодиночке ассоциированы с ИИ у мужчин. У женщин в сочетания входят аллели или генотипы SNP *IL6**-174G>C (ассоциирован с ИИ у женщин поодиночке, см. раздел 3.1), оба полиморфных участка гена *PDE4D*, SNPs *TGFBI**915G>C, *IFNG**874A>T и *LTA**252G>A. Особый интерес представляет появление в составе предрасполагающего сочетания аллеля 252G гена *LTA*, который не был выявлен при сравнении общих групп. Наиболее значимо позитивно ассоциировано с ИИ у женщин сочетание *IL6**-174G + *TGFBI**915G (*p*=0.001, ОШ=4.6, 95% ДИ: 1.56-13.5), сходное с наблюдаемым у мужчин и в общей группе. Выявлены также другие биаллельные предрасполагающие сочетания, несущие тот же аллель *IL6**-174G в сочетании с *PDE4D**87C

($p=0.01$, ОШ=2.36, 95% ДИ: 1.18-4.72) и с *IFNG**874Т ($p=0.017$, ОШ=2.22, 95% ДИ: 1.11-4.44), а также сочетание *LTA**252G + *PDE4D**41A ($p=0.013$, ОШ=5.63, 95% ДИ: 1.21-26.2). Также у женщин, как и в общей выборке, выявлено протективное сочетание *IL6**-174С/С + *IFNG**874А ($p=0.001$, ОШ=0.11, 95% ДИ: 0.02-0.51). В целом, при разделении выборки на мужчин и женщин сохраняется распределение в составе сочетаний аллелей/генотипов, выявленное в общей группе.

Так, присутствие аллелей SNPs -174G>С гена *IL6*, 41G>А и 87С>Т гена *PDE4D* в составе сочетаний наблюдается во всех трех группах, -308А>G гена *TNF* – в общей группе и у мужчин, 874А>Т гена *IFNG* – в общей группе и у женщин. SNPs *TGFBI**-509С>Т и/или *TGFBI**915G>С в составе сочетаний ассоциированы с ИИ и в общей группе, и после разделения по гендерному признаку. В то же время, SNPs -590С>Т гена *IL4* и 49А>G гена *CTLA4* входят в состав сочетаний, ассоциированных с ИИ, только в общей группе, а 252А>G гена *LTA* - только у женщин. Наблюдаемые различия могут быть связаны с уменьшением размера выборок при разделении общей группы по полу, но это объяснение вряд ли подходит для полиморфизма гена *LTA*.

При разделении выборки больных ИИ и контрольной группы в зависимости от возраста с последующим комплексным анализом выявили, что в возрастной группе старше 60 лет аллели/генотипы полиморфного участка -174G>С гена *IL6* входят практически во все сочетания, ассоциированные с ИИ. Комплексный анализ выявил у них следующие предрасполагающие к ИИ сочетания: *IL6**-174G + *TGFBI**915G ($p=0.00088$, ОШ=4.18, 95% ДИ: 1.75-9.95), которое также выявлялось в общей группе, и *IL6**-174G + *IFNG**874Т ($p=0.0036$, ОШ=2.36, 95% ДИ: 1.3-4.3), которое было выявлено у женщин. Как и в общей группе, наиболее значимым протективным сочетанием являлось сочетание *IL6**-174С/С + *IFNG**874А ($p=0.00036$, ОШ=0.17, 95% ДИ: 0.06-0.48). У лиц старше 60 лет была также выявлена отрицательная ассоциация с ИИ сочетаний *IL6**-174С/С + *TGFBI**-509Т ($p=0.00085$, ОШ=0.13, 95% ДИ: 0.03-0.48) и *TGFBI**869С + *IFNG**874А/А ($p=0.004$, ОШ=0.37, 95% ДИ: 0.19-0.74). Что касается последнего сочетания, то это единственный случай в нашем исследовании, когда мы наблюдали ассоциацию с ИИ аллеля полиморфного участка *TGFBI* 869Т>С. В целом, у лиц старше 60 лет наибольшее значение в развитии ИИ играют полиморфизм -174G>С гена *IL6*, как и в общей группе, и полиморфизм 874А>Т гена *IFNG*. У лиц с «ранним» ИИ (в возрасте 60 лет или моложе), в отличие от общей группы, мы не наблюдали ассоциированных с ИИ сочетаний, включающих аллели или генотипы полиморфного участка -174G>С гена *IL6*. Основной вклад в предрасположенность к ИИ у лиц этого возраста, по нашим данным вносят полиморфизмы 41G>А и 87С>Т гена *PDE4D* и -509С>Т гена *TGFBI*. С риском развития ИИ ассоциированы сочетания: *PDE4D**41А + *PDE4D**87С ($p=0.008$, ОШ=3.57, 95% ДИ: 1.31-9.72) и *PDE4D**87С + *TGFBI**-509Т/Т ($p=0.014$, ОШ=9.35, 95% ДИ: 1.14-77.03). Ассоциация сочетания *PDE4D**41А + *PDE4D**87С с ИИ наблюдалась также у мужчин, а сочетание *PDE4D**87С + *TGFBI**-509Т/Т было ассоциировано с развитием ИИ в общей

группе. Протективными для развития ИИ в подгруппе ≤ 60 лет является сочетание *PDE4D**41G/G + *TGFBI**-509C ($p=0.002$, ОШ=0.30, 95% ДИ: 0.14-0.66). В общей группе мы также наблюдали протективное сочетание *PDE4D**41G + *TGFBI**-509C.

Таким образом, как и в случае разделения больных и контролей по полу, при их разделении по возрасту сохраняется ряд закономерностей распределения отдельных аллелей/генотипов в составе сочетаний, обнаруженных в общей группе. SNPs -174G>C гена *IL6*, -509C>T и 915G>C гена *TGFBI* и 874A>T гена *IFNG* входят в состав ассоциированных с ИИ сочетаний как в общей группе, так и в подгруппе старше 60 лет, а 41G>A и 87C>T гена *PDE4D* и 915G>C гена *TGFBI* - в общей группе и в подгруппе до 60 лет включительно. При этом SNPs -590C>T гена *IL4*, 49A>G гена *CTLA4* и -308A>G гена *TNF* выявлены в составе ассоциированных с ИИ сочетаний только в общей группе. Интересно, что первые два из этих SNPs не входили в состав составных маркеров и в подгруппах мужчин и женщин. Обращают на себя внимание существенные различия в распределении SNPs, входящих в состав сочетаний, ассоциированных с ранним и более поздним ИИ. Если в возрастной группе ≤ 60 лет включительно с ИИ ассоциированы сочетания, несущие аллели SNPs 41G>A и 87C>T гена *PDE4D*, а также 509C>T гена *TGFBI*, то в группе старше 60 это оказались аллели SNPs -174G>C гена *IL6*, 509C>T, 869T>C и 915G>C гена *TGFBI* и 874A>T гена *IFNG*. Единственный SNP, входящий в состав сочетаний, ассоциированных с развитием ИИ в обеих возрастных группах - это -509C>T гена *TGFBI*, однако при этом аллель *TGFBI**-509T входит в состав разнонаправленно ассоциированных сочетаний.

В таблице 12 представлены сводные данные об аллелях риска, выявленных нами в составе сочетаний при различных типах сравнения больных ИИ и индивидов контрольной группы.

Таблица 12. Аллели риска, выявленные в составе сочетаний при сравнении больных ИИ и индивидов контрольной группы: общих групп, только мужчин, только женщин, отдельно лиц не старше 60 лет и лиц старше 60 лет

Полиморфизм	Аллель риска ИИ	Общие группы	Мужчины	Женщины	Лица не старше 60 лет	Лица старше 60 лет
<i>IL6</i> -174G>C	G	+	+	+		+
<i>PDE4D</i> 41G>A	A		+	+	+	
<i>PDE4D</i> 87C>T	C	+	+	+	+	
<i>TGFBI</i> -509C>T	T	+			+	
<i>TGFBI</i> 915G>C	G	+	+	+		+
<i>IFNG</i> 874A>T	T			+		+
<i>LTA</i> 252 G>A	G			+		

Примечание: «+» показывает, при каком типе сравнения больных ИИ и индивидов контрольной группы выявлен аллель риска. Без выделения цветом показаны аллели риска, которые были выявлены также поодиночке (представлены в таблице 10), цветом выделены аллели риска, выявленные только в составе сочетаний.

Эти данные свидетельствуют о повышении статистической мощности анализа при использовании комплексного подхода, основанного на анализе сочетаний генов. Действительно, ряд аллелей риска выявлен в сравниваемых подгруппах в составе значимых предрасполагающих сочетаний (выделены цветом), тогда как тогда как при анализе поодиночке для них не был достигнут уровень значимости. В целом, анализ совместного вклада в предрасположенность к ИИ

сочетаний аллелей или генотипов исследуемых генов позволил увеличить число генов, влияющих на восприимчивость к ИИ, с 4 до 8. Действительно, если объединить результаты всех проведенных сравнений, ассоциация ИИ с аллелями генов *IL6*, *PDE4D*, *TGFB1* и *IFNG* была показана как поодиночке (см. таблицу 10), так и в составе сочетаний, тогда как аллели генов *CTLA4*, *IL4*, *TNF* и *LTA* были ассоциированы с ИИ только в составе сочетаний. При этом важно отметить, что из последних только в случае гена *LTA* его аллель *LTA*252G* входил в состав предрасполагающих сочетаний, а аллели остальных генов были компонентами протективных сочетаний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, результаты, полученные при анализе 11 полиморфных участков 8 генов, свидетельствуют о том, что наиболее значимый вклад в развитие ИИ у этнических русских вносят гены *IL6*, *PDE4D* и *TGFB1*, белковые продукты которых участвуют в формировании патогенетических событий на различных стадиях, предшествующих ишемии (Ларина Н.В. с соавт. 2012). При сравнении общих групп больных и контролей аллели или генотипы полиморфных участков этих генов являются индивидуальными факторами риска. Ассоциации с SNP каждого из них наблюдаются и при стратификации сравниваемых групп на подгруппы по полу или по возрасту, причем каждая из этих ассоциаций сохраняется по крайней мере в одной из подгрупп.

Как показал анализ ассоциации носительства аллелей и генотипов полиморфного участка $-174G>C$ гена *IL6* с уровнями фибриногена и показателями тромбоцитарного гемостаза в плазме крови, выявленный вклад гена *IL6* в развитие ИИ, по-видимому, не определяется влиянием его полиморфизма на синтез фибриногена. Аллели или генотипы генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFB1* входят в состав ассоциированных с ИИ сочетаний из двух и трех аллелей/генотипов различных генов. Ассоциация ИИ с выявленными сочетаниями характеризуется бóльшим уровнем значимости, чем с одиночными аллелями. Распределение в составе сочетаний аллелей/генотипов, выявленное в общей группе, в целом сохраняется при разделении выборок на мужчин и женщин, однако у женщин обнаружен новый компонент предрасполагающего сочетания - аллель *LTA*252G*. При их разделении больных ИИ и контрольной группы на подгруппы по возрасту наблюдаются существенные различия в распределении SNPs, входящих в состав сочетаний, ассоциированных с ранним (не старше 60 лет) и более поздним ИИ. Полученные данные позволяют предполагать аддитивность вклада рассмотренных генов в предрасположенность к ИИ. По нашим данным, наибольшее прогностическое значение из изученных SNPs имеет анализ полиморфизмов $-174G>C$ гена *IL6*, $87C>T$ гена *PDE4D* и $-509C>T$ гена *TGFB1*, а также анализ их сочетаний. Так, носительство сочетания аллеля *PDE4D*87C* с генотипом *TGFB1* $-509T/T$* увеличивает риск развития ИИ более чем в 4 раза, а в возрасте ≤ 60 лет – более чем в 9 раз. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важной роли воспаления при ИИ, а выявленные в

работе одиночные и составные маркеры могут в дальнейшем послужить маркерами для определения индивидуального риска развития ИИ.

ВЫВОДЫ

1. Сравнительный анализ частот аллелей, частот носительства аллелей и генотипов полиморфных участков генов *CTLA4*, *IL6*, *TGFBI*, *IL4*, *TNF*, *IFNG*, *LTA* и *PDE4D* у больных ИИ и здоровых индивидов, русских по этнической принадлежности, выявил значимые позитивные ассоциации с развитием ИИ носительства аллелей *IL6**-174G и *PDE4D**87C и генотипа *TGFBI**-509T/T. Частоты аллелей, носительства аллелей и генотипов полиморфных участков 41G>A гена *PDE4D*, 49A>G гена *CTLA4*, -590C>T гена *IL4*, -308A>G гена *TNF*, 252G>A гена *LTA*, 874A>T гена *IFNG*, 869T>C и 915G>C гена *TGFBI* при этом значимо не отличались.
2. При разделении группы больных ИИ и контрольной группы по гендерному признаку наблюдали значимую позитивную ассоциацию с ИИ частоты носительства аллеля *IL6**-174G у женщин и генотипа *TGFBI**915G/G у мужчин. При разделении больных ИИ на две группы по возрасту (лица, перенесшие ИИ в возрасте старше 60 лет и в возрасте моложе или равном 60 лет) и их сравнении с лицами контрольной группы тех же возрастных категорий у лиц старше 60 лет выявлена позитивная ассоциация с ИИ носительства аллелей *IL6**-174G и *IFNG**874T, а у лиц ≤60 лет – носительства аллеля *PDE4D**41A.
3. При анализе уровней фибриногена и показателей тромбоцитарного гемостаза в плазме крови не было выявлено значимых различий между носителями различных аллелей и генотипов полиморфного участка -174G>C гена *IL6*.
4. Анализ совместного носительства аллелей/генотипов исследованных полиморфных участков с помощью ПО APSampler у больных ИИ и здоровых индивидов выявил позитивно и/или негативно ассоциированные с ИИ би- и триаллельные сочетания аллелей/генотипов генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI* с аллелями других исследованных генов, а именно *IFNG*, *CTLA4*, *IL4* и *TNF*, носительство которых в одиночку не было значимо ассоциировано с ИИ. Ассоциация ИИ с выявленными сочетаниями характеризуется бóльшим уровнем значимости, чем с одиночными аллелями. Носительство каждого из трех сочетаний: *IL6**-174G + *TGFBI**915G/G; *PDE4D**87C + *TGFBI**-509T/T и *PDE4D**87C + *TGFBI**915G/G – оказалось маркером риска ИИ.
5. При разделении больных ИИ и контрольной группы по гендерному признаку и последующем комплексном анализе у мужчин наблюдали позитивную ассоциацию с ИИ в составе различных сочетаний носительства аллеля *IL6**-174G или генотипа *IL6**-174G/G, аллелей *PDE4D**41A или *PDE4D**87C, а также генотипа *TGFBI**915G/G, а у женщин – тех же аллелей *IL6**-174G, *PDE4D**41A, *PDE4D**87C и *TGFBI**915G, что и у мужчин. Кроме того, в состав предрасполагающих сочетаний у женщин входил аллель *LTA**252G>A, который не был выявлен при сравнении общих групп, и аллель *IFNG**874T.

6. Комплексный анализ в подгруппе лиц в возрасте старше 60 лет выявил значимые позитивные ассоциации с ИИ в составе различных сочетаний аллелей *IL6**-174G, *TGFBI**915G и *IFNG**874T, а у лиц в возрасте ≤ 60 лет – аллелей *PDE4D**41GA, *PDE4D**87C и генотипа *TGFBI**-509T/T.
7. В целом, результаты, полученные при анализе 11 полиморфных участков 8 генов воспаления, свидетельствуют о том, что наиболее значимый вклад в развитие ИИ у этнических русских вносят гены *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI*. аллели или генотипы полиморфных участков которых являются индивидуальными маркерами риска. Выявлены также составные генетические маркеры ИИ, представляющие собой «генетические ансамбли» – сочетания 2 или 3 аллелей названных генов между собой или с аллелями генов *IFNG*, *LTA*, *CTLA4*, *IL4* и *TNF*. Для них характерно повышение уровня значимости по сравнению с индивидуальными маркерами риска, свидетельствующее о кумулятивном вкладе полиморфизма отдельных генов в предрасположенность к ИИ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные в работе данные могут послужить основой при создании тест-системы для прогнозирования генетического риска ИИ у этнических русских. Они могут быть использованы в курсах лекций, посвященных патогенезу этого заболевания и прогнозированию его развития.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах из перечня ВАК

1. Парфенов, М.Г. Комплексный анализ генетической предрасположенности к ишемическому инсульту у русских / М.Г. Парфенов, Б.В. Титов, М.А. Судомоина, М.Ю. Мартынов, А.В. Фаворов, М.Ф. Ochs, Е.И. Гусев, О.О. Фаворова / Молекулярная биология. — 2009. — Том 43, №5. — С. 937-945.
2. Судомоина, М. А. Комплексный анализ ассоциации полиморфизма генов воспаления с инфарктом миокарда / М. А. Судомоина, Т. С. Сухинина, Р. М. Барсова, А. В. Фаворов, Р. М. Шахнович, Н. А. Матвеева, **Б. В. Титов**, И. Н. Рыбалкин, Т. Н. Власик, М. Ф. Ochs, М. Я. Руда, О.О. Фаворова / Молекулярная биология. — 2010. — Том 44, №3. — С. 463-471.
3. **Титов, Б. В.** Полиморфные варианты генов, кодирующих интерлейкин-6 и фибриноген, риск ишемического инсульта и уровни фибриногена / **Б. В. Титов**, Р. М. Барсова, М. Ю. Мартынов, А. А. Никонова, А. В. Фаворов, Е. И. Гусев, О. О. Фаворова / Молекулярная биология. — 2012. — Том 46, № 1. — С.93–102.
4. Сухинина, Т.С. Значение аллельного полиморфизма генов системы воспаления для прогноза больных инфарктом миокарда / Т.С. Сухинина, Р.М. Шахнович, Р.М. Барсова, Н.А. Матвеева, **Б. В. Титов**, М.А. Судомоина, О.О. Фаворова, М.Я. Руда / Кардиология. — 2012. — Том 52, № 3. — С. 15-21.

5. Барсова, Р.М. Участие гена *TGFBI* в формировании предрасположенности к инфаркту миокарда / Р.М. Барсова, **Б.В. Титов**, Н.А. Матвеева, А.В. Фаворов, И.Н. Рыбалкин, Т.Н. Власик, Э.М. Тарарак, Т.С. Сухинина, Р.М. Шахнович, М.Я. Руда, О.О. Фаворова / *Acta Naturae*. — 2012. — Том 4, №2 (13). — С. 76-82.

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИЙ

1. Комплексный анализ вклада полиморфизма генов воспаления в предрасположенность к ишемическому инсульту у русских / **Б.В. Титов** // Материалы XIX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (9-13 апреля 2012 года, Москва). — 2012. — С. 82.
2. Полиморфизм генов системы воспаления и ишемический инсульт / **Б. В. Титов**, Н. А. Матвеева, Р. М. Барсова, М. Ю. Мартынов, Е. И. Гусев, О. О. Фаворова // Всероссийская научно-практическая конференция «Кардиология в свете новых достижений медицинской науки» (Москва, 5-6 июня 2012).
3. Complex analysis of the association of inflammation genes polymorphous loci with ischemic stroke / N.A. Matveeva, **B.V. Titov**, R.M. Barsova, M. Yu. Martynov and O.O. Favorova // *Inflammation and Atherosclerosis* (20-21 сентября 2012 года, Мюнхен, Германия).
4. Полиморфизм генов, белковые продукты которых играют роль в развитии воспаления, при ишемическом инсульте / **Б.В. Титов**, Н.А. Матвеева, Р.М. Барсова, М.Ю. Мартынов, О.О. Фаворова // III Евразийский конгресс кардиологов (20-21 февраля 2014 года, Москва).
5. Полиморфизм генов, белковые продукты которых играют роль в развитии воспаления, при ишемическом инсульте / **Б. В. Титов**, Н. А. Матвеева, Р. М. Барсова, М. Ю. Мартынов, О.О. Фаворова // VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» (18-20 марта 2014 года, Москва).

Список использованных сокращений: ГЭБ – гематоэнцефалический барьер, ДИ – доверительный интервал, ИИ – ишемический инсульт, КТ – компьютерная томография, МРТ – магнитно-резонансная томография, ОШ – отношение шансов, ПДРФ – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов, п.н. – пара нуклеотидов, ПЦР – полимеразная цепная реакция, РТ-ПЦР – ПЦР в реальном времени, ПЦР-SSP – ПЦР с использованием набора аллелеспецифических праймеров, РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система, ср. возраст – средний возраст, CTLA4 – антиген 4 цитотоксических Т-лимфоцитов (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4), $IFN\gamma$ – интерферон гамма, *IFNG* – ген, кодирующий интерферон гамма, *IL4* – ген, кодирующий интерлейкин 4, *IL-6* – интерлейкин 6, *IL6* – ген, кодирующий интерлейкин 6, *LTA* – ген, кодирующий лимфотоксин альфа, *PDE4D* – фосфодиестераза 4D, *PDE4D* – ген, кодирующий фосфодиестеразу 4D, SNP(s) – однонуклеотидный(ые) полиморфизм(ы) (single nucleotide polymorphism(s)), *TGFBI* – ген трансформирующего фактора роста бета 1, TNF – фактор некроза опухоли альфа, *TNF* – ген фактора некроза опухоли альфа.