


Связь носительства аллельных вариаций по rs2228145 (A > C) гена *IL6R* с уровнем транскриптов генов *VCAM1* и *ICAM1* при эссенциальной артериальной гипертензии

Л.В. Топчиева¹ , В.А. Корнева², И.В. Курбатова¹

¹ Институт биологии – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия

² Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

 e-mail: topchieva67@mail.ru

Аннотация. При сердечно-сосудистых заболеваниях в плазме крови наблюдается повышение содержания интерлейкина 6 и его растворимых рецепторов, что указывает на усиление IL-6/sIL-6R сигнала в клетках и развитие хронического воспаления. Носительство аллельных вариаций по rs2228145 гена *IL6R* ассоциировано с изменением содержания растворимой и мембраносвязанной форм рецептора, опосредующих биологическую активность самого цитокина. IL-6 участвует в развитии эндотелиальной дисфункции посредством регуляции экспрессии генов *VCAM1* и *ICAM1*, кодирующих молекулы межклеточной адгезии. До настоящей работы данные об ассоциации эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) с аллельными вариациями по rs2228145 гена *IL6R* не были представлены. Цель исследования – изучить связь носительства аллельных вариаций по rs2228145 (A > C) с развитием ЭАГ и уровнем транскриптов генов *VCAM1*, *ICAM1*. Для этого нами использованы образцы ДНК, выделенной из цельной крови здоровых доноров (148) и пациентов с ЭАГ (I–II стадии) (152). Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ. Уровень транскриптов в лейкоцитах периферической крови оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени. Обнаружены различия в распределении частот генотипов по rs2228145 (A > C) в контрольной группе и группе пациентов с ЭАГ ($\chi^2 = 9.303$). Частота генотипа CC в группе больных людей оказалась выше, чем в группе здоровых (0.191 и 0.095 соответственно). Выявлено, что у носителей генотипа CC риск развития ЭАГ (I–II стадии) в 2.3 раза выше (ОШ = 2.257, 95 % доверительный интервал 1.100–4.468), чем у лиц, имеющих альтернативные генотипы. Уровень транскриптов генов *VCAM1*, *ICAM1* значимо выше в лейкоцитах периферической крови больных ЭАГ, чем здоровых людей. Содержание транскриптов гена *ICAM1* оказалось в 4 раза выше у больных ЭАГ с генотипом CC. С помощью дисперсионного анализа Крускала–Уоллиса определено влияние на транскрипционную активность указанного гена генотипа по rs2228145 (A > C), что говорит о его роли в патогенезе эндотелиальной дисфункции и эссенциальной артериальной гипертензии.

Ключевые слова: интерлейкин 6; ген *IL6R*; эссенциальная артериальная гипертензия; эндотелиальная дисфункция.


Для цитирования: Топчиева Л.В., Корнева В.А., Курбатова И.В. Связь носительства аллельных вариаций по rs2228145 (A > C) гена *IL6R* с уровнем транскриптов генов *VCAM1* и *ICAM1* при эссенциальной артериальной гипертензии. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2020;24(1):96-101. DOI 10.18699/VJ20.600

The relationship of the carriership of allelic variations in rs2228145 (A > C) of the *IL6R* gene with the levels of *VCAM1* and *ICAM1* gene transcripts in patients with essential hypertension

L.V. Topchieva¹ , V.A. Korneva², I.V. Kurbatova¹

¹ Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

² Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

 e-mail: topchieva67@mail.ru

Abstract. The levels of plasma interleukin 6 and its soluble receptors were found to be elevated in subjects with cardiovascular diseases, which points to amplification of the IL-6-mediated trans-signaling pathway in cells and the development of chronic inflammation. The allelic variation in the rs2228145 *IL6R* gene is associated with a change in the contents of the soluble and membrane-bound receptor forms mediating the biological activity of IL-6. Cytokine IL-6 is involved in the development of endothelial dysfunction by regulating the expression of the *VCAM1* and *ICAM1* genes, encoding intercellular adhesion molecules. Prior to this work, no data on the association of essential arterial hypertension (EAH) with rs2228145 allelic variations of the *IL6R* gene have been reported. The aim of our work was to study the relationship of the carriership of rs2228145 (A > C) allelic variations with the development of EAH and the *VCAM1* and *ICAM1* transcript levels. We analyzed samples of DNA isolated from the whole blood of 148 healthy donors and 152 patients with EAH (stages I–II). The genotyping was performed by PCR-RFLP. The level of transcripts in peripheral blood leukocytes (PBL) was assessed by real-time PCR. Differences in the frequency distributions of rs2228145 (A > C) genotypes between the control group and the group of patients with EAH ($\chi^2 = 9.303$) were found. The frequency of the CC genotype in EAH patients was higher than in healthy

people (0.191 and 0.095, respectively). The risk of EAH (I–II stages) development was shown to be 2.3 times higher in CC genotype carriers as compared to individuals with other genotypes (OR = 2.257, 95 % confidence interval 1.100–4.468). The levels of *VCAM1* and *ICAM1* gene transcripts in PBL of patients with EAH were significantly higher than in healthy people. The level of *ICAM1* gene transcripts was almost 4 times higher in patients with CC genotype. The Kruskal–Wallis analysis of variance revealed an effect of rs2228145 (A > C) genotype on the transcriptional activity of *ICAM1*, which argues for its role in the pathogenesis of endothelial dysfunction and essential hypertension.

Key words: interleukin 6; *IL6R* gene; essential arterial hypertension; endothelial dysfunction.

For citation: Topchieva L.V., Korneva V.A., Kurbatova I.V. The relationship of the carriership of allelic variations in rs2228145 (A > C) of the *IL6R* gene with the levels of *VCAM1* and *ICAM1* gene transcripts in patients with essential hypertension. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(1):96–101. DOI 10.18699/VJ20.600

Введение

Эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ) характеризуется формированием постоянно повышенного систолического и диастолического артериального давления (более 140/90 мм рт. ст.) и сопровождается хроническим вялотекущим системным воспалением с увеличением провоспалительных белков в плазме крови и тканях сосудов (Bautista et al., 2005). Среди них значительный вклад в патогенез данного заболевания вносит интерлейкин 6 (IL-6). Он способен стимулировать продукцию белков острой фазы воспаления, усиливать адгезивные свойства клеток эндотелия сосудов и трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов (Virdis et al., 2014). Повышенный уровень IL-6 вызывает усиление продукции активных форм кислорода, изменения в содержании атерогенных и антиатерогенных фракций липидов и их окисленных форм в плазме, способствуя атерогенезу. Важно отметить, что этот цитокин наряду с другими провоспалительными белками способствует снижению активности эндотелиальной синтазы оксида азота, что приводит к уменьшению продукции оксида азота эндотелием сосудов и нарушению вазомоторных функций сердечно-сосудистой системы (Didion, 2017).

Свои биологические эффекты интерлейкин 6 реализует посредством взаимодействия либо с трансмембранным рецептором (mbIL-6R), либо с растворимым рецептором (sIL-6R), которые связаны с другим компонентом рецепторного комплекса, гликопротеином 130 (GP130) (Wolf et al., 2014). Путь проведения сигнала от лиганда внутрь клетки посредством взаимодействия с mbIL-6R считается классическим; он присутствует только в ограниченном типе клеток, таких как гепатоциты, макрофаги, нейтрофилы и Т-лимфоциты. Проведение сигнала при помощи sIL-6R реализуется во всех типах клеток и называется трансигнальным путем. В условиях воспаления в плазме крови и тканях увеличивается концентрация sIL-6R за счет усиления протеолитического расщепления мембраносвязанной формы рецептора металлопротеазами семейства ADAM, при этом изменяется соотношение mbIL-6R и sIL-6R (Wolf et al., 2014).

На баланс мембраносвязанной и растворимой форм рецептора IL-6 оказывают влияние и некоторые мутации в гене *IL6R* (Rafiq et al., 2007; Ferreira et al., 2013). Так, однонуклеотидная замена (A > C) в экзоне 9 гена *IL6R* (rs2228145) приводит к замене аспарагина на аланин в позиции 358 аминокислотной последовательности белка и влияет на процесс эктодомного шеддинга за счет изменения сайта расщепления полипептидной цепи рецептора протеазами ADAM10 и ADAM17 и формирования

разных сплайсосомных форм мРНК этого гена (Galicia et al., 2004; Rafiq et al., 2007; Ferreira et al., 2013). У носителей аллеля С концентрация sIL-6R выше, чем у носителей аллеля А (Galicia et al., 2004; Rafiq et al., 2007; Ferreira et al., 2013). Показано, что у носителей аллеля С по rs2228145 снижен риск развития коронарной болезни сердца (The Interleukin 6 receptor..., 2012). Однако сведения о связи носительства аллельных вариаций по указанному полиморфному варианту с развитием артериальной гипертензии на данный момент не представлены в литературе.

Интерлейкин 6 играет роль в стабильном повышении артериального давления за счет воздействия на ремоделирование сосудов и функционирование эндотелия (Didion, 2017). Комплекс IL-6/sIL-6R участвует в контроле за проницаемостью сосудов. Воздействуя на фибробласты и индуцируя продукцию сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), IL-6 способен активировать эндотелиальные клетки (Nakahara et al., 2003). Эти клетки, активированные с помощью молекул межклеточной адгезии, связывают лейкоциты из кровотока, что приводит к усилению процесса их трансэндотелиальной миграции (Cook-Mills et al., 2011). Причем для развития артериальной гипертензии и нарушения функций сосудов существенное значение имеет инфильтрация моноцитов с провоспалительными свойствами (Wenzel et al., 2011). Попадая в интиму сосудов, моноциты дифференцируются в зависимости от микроокружения (концентрации хемокинов и цитокинов) в макрофаги с провоспалительным M1 или противовоспалительным M2 фенотипом. Поляризация макрофагов в M1 фенотип способствует атеросклеротическим процессам в стенках сосудов, что в свою очередь играет важную роль в формировании высокого давления крови (Moss, Ramji, 2016). Эти процессы сопряжены с развитием эндотелиальной дисфункции, маркером которой является повышенный уровень на поверхности эндотелиальных клеток и в плазме крови молекул межклеточной адгезии (Sprague, Khalil, 2009).

Показано, что уровень IL-6 в плазме крови положительно коррелирует с содержанием E-селектина, VCAM-1 (молекула адгезии сосудистых клеток-1), ICAM-1 (межклеточная молекула адгезии-1) на поверхности эндотелиальных клеток (Weiss et al., 2013). В нормальных физиологических условиях эндотелий сосудов не препятствует свободной циркуляции иммунных клеток в кровотоке. При воспалении происходит нарушение этого процесса. Лейкоциты начинают взаимодействовать с клетками эндотелия, что в итоге приводит к их плотной адгезии на поверхности эндотелия, инфильтрации и аккумуляции в интиму сосудов. Этап закрепления лейкоцитов на по-

верхности эндотелия характеризуется взаимодействием интегринов с молекулами ICAM-1 и VCAM-1, которые относятся к суперсемейству иммуноглобулинов (Weiss et al., 2013). Этот процесс активируется при увеличении в плазме крови уровня цитокинов, активных форм кислорода, окисленных липопротеинов низкой плотности, а также при усилении скорости кровотока (Weiss et al., 2013).

Как уже было отмечено, rs2228145 влияет на содержание и биологическую активность интерлейкина 6 (Rafiq et al., 2007), выступающего в качестве одного из факторов усиления транскрипции генов межклеточной адгезии *ICAM1* и *VCAM1* (Cook-Mills et al., 2011). IL-6 индуцирует экспрессию генов молекул межклеточной адгезии за счет активации IL-6/STAT3 (signal transducers and activators of transcription3) сигнального пути (Wei et al., 2018). Кроме того, IL-6/sIL-6 комплекс через киназу JAK3 запускает сигнал для деградации комплекса «ингибитор ядерного фактора “каппа-би”/ядерный фактор “каппа-би”» (IkBa/NF-κB), что приводит к последующему усилению транскрипционной активности генов провоспалительных цитокинов и молекул межклеточной адгезии. Таким образом, модулирование активности IL-6 за счет повышения уровня растворимых рецепторов может существенным образом влиять на экспрессию молекул межклеточной адгезии и силу иммунного ответа на воспалительные стимулы. В связи с этим цель исследования – изучить связь носительства аллельных вариаций по rs2228145 с развитием эссенциальной артериальной гипертензии (I–II типа) и уровнем транскриптов генов *VCAM1*, *ICAM1*.

Материал и методы

Для генотипирования использовали 152 образца ДНК, выделенной из венозной крови пациентов с ЭАГ (I–II стадии) (80 мужчин и 72 женщины), и 148 образцов ДНК, выделенной из крови здоровых доноров (65 мужчин и 83 женщины). Материал для исследования получен при содействии кафедры факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии Медицинского института Петрозаводского государственного университета (ПетрГУ) и клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г. Петрозаводска. Диагноз ЭАГ устанавливался на основании клинических рекомендаций Всероссийского общества кар-

диологов (Диагностика..., 2010). Средний возраст доноров из контрольной группы составил 42.5 ± 10.6 года, пациентов с ЭАГ – 45.7 ± 13.1 года. Критерии включения, общие для доноров изучаемых групп: наличие информированного согласия, проживание в Республике Карелия. Критерии исключения, общие для доноров изучаемых групп: перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания, беременность и лактация, курение, сахарный диабет, индекс массы тела ≥ 30 кг/м².

ДНК выделяли из периферической крови на микроколлонках с помощью набора «К-Сорб» («Синтол», Россия). Качество и количество ДНК определяли спектрофотометрически на приборе SmartSpec (Bio-Rad, США). Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ. Условия ПЦР-ПДРФ анализа описаны в табл. 1. Праймеры синтезированы в фирме «Синтол». Для дизайна праймеров использована программа Beacon Designer 5.0. После рестрикции (обработка *Hinf*I (1 е. а.), 37 °C, 3 ч) фрагменты ДНК разделяли в 1.5 % агарозном геле, используя трисацетатный буфер. У части доноров, выбранных случайным образом, определяли уровень транскриптов генов *ICAM1*, *VCAM1* в лейкоцитах периферической крови (ЛПК). С этой целью забор венозной крови проводился по назначению пациентам гипотензивных и противовоспалительных препаратов.

Для определения уровня транскриптов генов *ICAM1* и *VCAM1* использованы 36 образцов крови пациентов с ЭАГ (I–II стадии) в возрасте 42.42 ± 2.3 года и 40 образцов крови доноров контрольной группы в возрасте 39.82 ± 3.9 года. Тотальную РНК выделяли из ЛПК с помощью набора Extract RNA («Евроген», Россия), а затем обрабатывали ДНКазой (1 е. а.) («Сибэнзим», Россия). Первую цепь кДНК синтезировали применяя набор MMLV RT kit («Евроген»). Количество и качество РНК и кДНК определяли спектрофотометрически на приборе SmartSpecPlus (Bio-Rad, США). Уровень экспрессии генов *ICAM1*, *VCAM1* оценивали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (Bio-Rad) с помощью набора Screen-Mix SYBRGreen («Евроген»). В качестве референсных генов использовали *GAPDH* и *18S rRNA*. Последовательность праймеров приведена в табл. 1. Специфичность продуктов амплификации прове-

Таблица 1. Праймеры для проведения ПЦР-ПДРФ анализа и ПЦР в режиме реального времени

Ген, SNV	Нуклеотидная последовательность праймера 5'..3', рестриктаза	Аллели, длина фрагментов, п. о.	Источник
<i>IL6R</i> rs2228145	F: CCTCTTTGTGCCTTGTG R: ATGGATTACCTCTTCGTGTC	A – 331, 239, 66, 74 C – 570, 66, 74	Собственный дизайн
<i>GAPDH</i>	F: GAAGGTGAAGGTCGGAGTC R: GAAGATGGTGATGGGATTTTC	226	»
<i>18S rRNA</i>	F: AGAAACGGCTACCACATCCA R: CACCAGACTTGCCCTCCA	169	Pinto et al., 2010
<i>ICAM1</i>	F: AGAGGTCTCAGAAGGGACCG R: GGGCCATACAGGACACGAAG	228	Rajan et al., 2008
<i>VCAM1</i>	F: ATGCCTGGGAAGATGGTCCG R: GACGGAGTCCCAATCTGAGC	129	»

ражи плавлением ПЦР-фрагментов. Эффективность ПЦР (98 %) оценивали по стандартной кривой. Уровень транскриптов генов вычисляли по $\Delta\Delta C_t$ (Livak, Schmittgen, 2001). Каждую ПЦР проводили не менее трех раз.

На проведение исследований получено согласие Комитета по медицинской этике Минздрава Республики Карелия и ПетрГУ. Статистическую обработку данных проводили в программе Statgraphics 2.1. Достоверность различий частот аллелей и генотипов в группах оценивали с помощью критерия χ^2 . Обнаружены отклонения значений биохимических показателей от нормального распределения (критерий Колмогорова–Смирнова, $p < 0.05$), в связи с чем для анализа достоверности различий этих показателей между группами был использован непараметрический критерий U Вилкоксона–Манна–Уитни. Влияние генотипов на уровень транскриптов оценивали с помощью дисперсионного анализа Крускала–Уоллиса. Для оценки риска развития ЭАГ рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (95 % ДИ) (Флетчер и др., 1998). Данные по уровню транскриптов представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой. Различия считались значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

В ходе исследования в изученной выборке у гена *IL6R* (rs2228145) выявлены генотипы AA, AC и CC (рис. 1).

В изучаемых группах проводился тест на соответствие распределения равновесию Харди–Вайнберга. Отклонение частот генотипов от равновесия Харди–Вайнберга не наблюдалось в группе здоровых людей ($\chi^2 = 1.96$, $df = 2$, $p = 0.376$). В группе больных ЭАГ отмечено отклонение частот генотипов от равновесия Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 7.02$, $df = 2$, $p = 0.093$).

Распределение аллелей по rs2228145 (A > C) у пациентов с ЭАГ и в контрольной группе не различалось (табл. 2). Встречаемость генотипов в исследуемых группах оказалась неодинаковой. Обнаружено, что частота генотипа CC по rs2228145 гена *IL6R* в группе больных ЭАГ существенно выше, чем в контрольной.

Согласно расчетам отношения шансов, риск развития ЭАГ у лиц с генотипом CC по rs2228145 увеличивается в 2.2 раза по сравнению с носителями других генотипов (табл. 3).

Установлено, что больные ЭАГ характеризуются более высоким уровнем экспрессии генов молекул адгезии *VCAM1* и *ICAM1* в ЛПК ($p = 0.005$ и

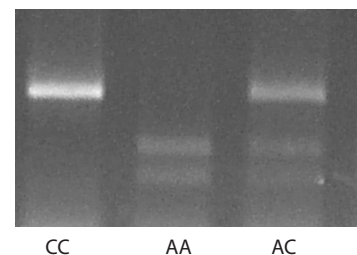


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-фрагментов гена *IL6R* в 1.5 % агарозном геле после обработки эндонуклеазой рестрикции *Hinf I*. Аллелю А соответствуют фрагменты ДНК 331 и 239 п.н., аллелю С – 570 п.н.

$p = 0.0006$ соответственно) по сравнению с донорами из контрольной группы.

Уровни мРНК гена *VCAM1* в ЛПК индивидов, имеющих генотипы AA и AC+CC по rs2228145 гена *IL6R*, значимо не различались как в контрольной группе, так и в группе больных ЭАГ ($p = 0.292$ и $p = 0.071$ соответственно) (рис. 2). Выявлены различия в содержании мРНК гена *ICAM1* у больных ЭАГ с разными аллельными вариациями по rs2228145 гена *IL6R* (см. рис. 2). У лиц, имеющих аллель С, уровень транскриптов гена *ICAM1* в 4 раза выше, чем у лиц, имеющих альтернативные варианты по указанному полиморфному маркеру. Выявлено влияние генотипа по rs2228145 на содержание мРНК гена *ICAM1* (Test statistic = 4.74, $p = 0.029$).

Таблица 2. Распределение аллелей и генотипов по полиморфному маркеру A > C rs2228145 гена *IL6R* в группе пациентов с ЭАГ (I–II стадии) и в контрольной группе

Аллели и генотипы	Контрольная группа (n = 148)	Больные ЭАГ (n = 152)	Критерий χ^2
A	191 (0.646)*	190 (0.625)	0.266 (df = 1, $p > 0.05$)
C	105 (0.354)	114 (0.375)	
AA	57 (0.385)	67 (0.441)	9.303 (df = 2, $p < 0.01$)
AC	77 (0.520)	56 (0.368)	
CC	14 (0.095)	29 (0.191)	

* В скобках указана частота встречаемости.

Таблица 3. Доминантная и рецессивная модели распределения генотипов по rs2228145 (A > C) гена *IL6R*

Модель	Генотип	ЭАГ (n = 152)	Контрольная группа (n = 148)	χ^2	ОШ (95 % ДИ)
Доминантная	AA	67	57	0.958, $p = 0.328$	0.795 (0.501–1.260)
	AC+CC	85	91		
Рецессивная	AC+AA	123	134	5.651, $p = 0.018$	2.257 (1.100–4.468)
	CC	29	14		

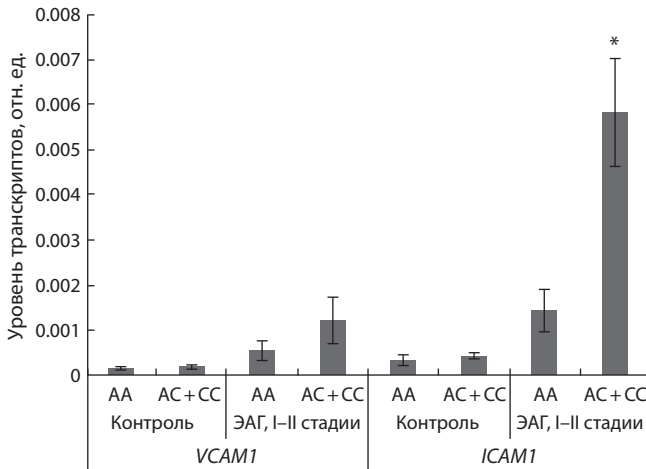


Рис. 2. Уровень транскриптов генов *VCAM1* и *ICAM1* в ЛПК здоровых людей и больных ЭАГ, носителей аллельных вариаций по rs2228145 гена *IL6R*.

* Различия значимы при сравнении с носителями генотипа AA ($p = 0.021$).

Обсуждение

Нами выявлена ассоциация аллельных вариаций rs2228145 гена *IL6R* с развитием у людей ЭАГ. Носители генотипа CC по этому аллелю характеризуются повышенным в 2.3 раза риском развития указанного заболевания. Интересно, что, согласно данным литературы, носительство аллеля С считается протективным в отношении развития коронарной болезни сердца, ревматоидного артрита (Jiang et al., 2010; Sarwar et al., 2012; Ferreira et al., 2013). Этот факт можно объяснить снижением экспрессии mbIL-6R на поверхности Т-лимфоцитов и моноцитов, которое приводит к ослаблению классического сигнального пути IL-6, выражающегося в уменьшении пула фосфорилированных форм транскрипционных факторов STAT1 (signal transducers and activators of transcription1) и STAT3 в этих клетках (Ferreira et al., 2013). Выявленный нами патогенетический эффект аллеля С по указанному полиморфному маркеру на формирование ЭАГ можно объяснить тем, что его носительство обуславливает более высокий уровень растворимых рецепторов IL-6 в плазме крови (Galicia et al., 2004; Rafiq et al., 2007; Ferreira et al., 2013) и может обеспечивать повышение стабильности IL-6 сигнализации. Приблизительно 70 % секретируемого IL-6 связывается с sIL-6R в крови (Gaillard et al., 1999). Таким образом, sIL-6R функционирует как молекула-носитель для IL-6. В клетках эндотелия сосудов данный цитокин реализует свои эффекты через IL-6/sIL-6R путь передачи сигнала. У больных с патологией сердечно-сосудистой системы уровень sIL-6R в плазме крови повышается (Sarwar et al., 2012). У лиц с генотипами AC и CC по rs2228145 это, в свою очередь, может привести к дополнительной активации сигнальных путей, реализующих воспалительный сигнал в клетках эндотелия. Известно, что IL-6/sILR-6 комплекс активирует p65 NF-κB и STAT3 транскрипционные факторы и способствует увеличению содержания мРНК генов *IL6*, *GPI30*, *STAT3* (Kim et al., 2011), таким образом усиливая локальные и системные воспалительные реакции.

Провоспалительные цитокины, такие как TNFα и IL-6, усиливают транскрипционную активность генов, кодирующих молекулы адгезии (*VCAM-1*, *ICAM-1*) (Sprague, Khalil, 2009). Инициация проведения сигналов от TNFα и IL-6 к ядерному аппарату клеток осуществляется через регуляцию активности НАДФ оксидазы 2 и продукцию активных форм кислорода (Cook-Mills et al., 2011; Wang et al., 2016). Усиление транскрипционной активности этих генов под влиянием провоспалительных факторов является основной причиной повышения содержания молекул адгезии на поверхности эндотелиальных клеток (Sprague, Khalil, 2009). Уровень ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина связан с риском развития ишемической болезни сердца (Белокопытова и др., 2013), атеросклероза сосудов (Galkina, Ley, 2007), легочной гипертензии (Kato et al., 2005). Следовательно, модулирование активности интерлейкина 6 за счет изменения соотношения мембраносвязанных и растворимых форм его рецепторов, опосредованного наличием мутаций, влияющих на эктодоменный шеддинг, может существенным образом сказываться на содержании мРНК генов, кодирующих молекулы межклеточной адгезии. Действительно, нами обнаружено влияние генотипа по rs2228145 на транскрипционную активность гена *ICAM1* в лейкоцитах периферической крови. Полученные данные косвенно свидетельствуют об изменении транскрипционной активности этого гена и в клетках эндотелия и, по всей вероятности, указывают на развитие эндотелиальной дисфункции. Таким образом, полиморфный маркер rs2228145 гена *IL6R*, предположительно, вовлечен в генетическую предрасположенность людей к ЭАГ. Носительство аллеля С по указанному маркеру может стать причиной высокого уровня мРНК гена *ICAM1* у больных ЭАГ, что, вероятно, имеет значение в патогенезе дисфункции эндотелия и при развитии данной болезни.

Список литературы / References

- Белокопытова И.С., Москалец О.В., Палеев Ф.Н., Зотова О.В. Диагностическое значение растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 при ишемической болезни сердца. Атеросклероз и дислипидемии. 2013;4:62-65.
- [Belokopytova I.S., Moskaletz O.V., Paleev F.N., Zotova O.V. The diagnostic value of adhesive molecules sICAM-1 and sVCAM-1 in ischemic heart disease. Ateroskleroz i Dislipidemii = Atherosclerosis and Dyslipidemia. 2013;4:62-65. (in Russian)]
- Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (Четвертый пересмотр). (Рос. мед. о-во по артер. гипертензии; Всерос. науч. о-во кардиологов). Системные гипертензии. 2010;3:5-26.
- [Diagnosis and treatment of hypertension. Russian recommendations (Fourth revision). (Russian Medical Society on Arterial Hypertension; Russian Scientific Society of Cardiology). Sistemnye Gipertenzii = Systemic Hypertension. 2010;3:5-26. (in Russian)]
- Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология: основы доказательной медицины. М., 1998.
- [Fletcher R., Fletcher S., Wagner E. Clinical Epidemiology. The essentials. Baltimore [etc.]: Williams & Wilkins: A Waverly Company, 1996. (Russ. ed. Fletcher R., Fletcher S., Wagner E. Klinicheskaya epidemiologiya: osnovy dokazatel'noy meditsiny. Moscow, 1998.)]
- Bautista L.E., Vera L.M., Arenas I.A., Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-α) and essential hypertension. J. Hum. Hypert. 2005; 19:149-154.

- Cook-Mills J.M., Marchese M.E., Abdala-Valencia H. Vascular cell adhesion molecule-1 expression and signaling during disease: regulation by reactive oxygen species and antioxidants. *Antioxid. Redox Signal.* 2011;15(6):1607-1638. DOI 10.1089/ars.2010.3522.
- Didion S.P. Cellular and oxidative mechanisms associated with interleukin-6 signaling in the vasculature. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(2563). DOI 10.3390/ijms18122563.
- Ferreira R.C., Freitag D.F., Cutler A.J., Howson J.M., Rainbow D.B., Smyth D.J., Kaptoge S., Clarke P., Boreham C., Coulson R.M., Pekalski M.L., Chen W.M., Onengut-Gumuscu S., Rich S.S., Butterworth A.S., Malarstig A., Danesh J., Todd J.A. Functional *IL6R* 358Aa allele impairs classical IL-6 receptor signaling and influences risk of diverse inflammatory diseases. *PLoS Genet.* 2013;9(4):e1003444. DOI 10.1371/journal.pgen.1003444.
- Gaillard J., Pugnère M., Tresca J., Mani J., Klein B., Brochier J. Interleukin-6 receptor signaling. II. Bio-availability of interleukin-6 in serum. *Eur. Cytokine Netw.* 1999;10(3):337-344.
- Galicia J.C., Tai H., Komatsu Y., Shimada Y., Akazawa K., Yoshie H. Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced. *Genes Immun.* 2004;5:513-516. DOI 10.1038/sj.gene.6364120.
- Galkina E., Ley K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007;27:2292-2301. DOI 10.1161/ATVBAHA.107.149179.
- Jiang C.Q., Lam T.H., Liu B., Lin J.M., Yue X.J., Jin Y.L., Cheung B.M.Y., Thomas G.N. Interleukin-6 receptor gene polymorphism modulates interleukin-6 levels and the metabolic syndrome: GBCS-CVD. *Obesity.* 2010;18(10):1969-1974. DOI 10.1038/oby.2010.31.
- Kato G.J., Martyr S., Blackwelder W.C., Nichols J.S., Coles W.A., Hunter L.A., Brennan M., Hazen S.L., Gladwin M.T. Levels of soluble endothelium-derived adhesion molecules in patients with sickle cell disease are associated with pulmonary hypertension, organ dysfunction, and mortality. *Br. J. Haematol.* 2005;130(6):943-953.
- Kim S.K., Park K.Y., Yoon W.C., Park S.H., Park K.K. Mellitin enhances apoptosis through suppression of IL-6/sIL-6R complex-induced NF- κ B and STAT3 activation and Bcl-2 expression for human fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2011;78:471-477. DOI 10.1016/j.jbspin.2011.01.004.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods.* 2001;25(4):402-408. DOI 10.1006/meth.2001.1262.
- Moss J.W.E., Ramji D.P. Cytokines: roles in atherosclerosis disease progression and potential therapeutic targets. *Future Med. Chem.* 2016;8(11):1317-1330. DOI 10.4155/fmc-2016-0072.
- Nakahara H., Song J., Sugimoto M., Hagihara K., Kishimoto T., Yoshizaki K., Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor production in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(6):1521-1529.
- Pinto J.P., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F., de Sousa M. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes. *Immunology.* 2010;130(2):217-230. DOI 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x.
- Rafiq S., Frayling T.M., Murray A., Hurst A., Stevens K., Weedon M.N., Henley W., Ferrucci L., Bandinelli S., Corsi A.M., Guralnik J.M., Melzer D. A common variant of the interleukin 6 receptor (IL-6r) gene increases IL-6r and IL-6 levels, without other inflammatory effects. *Genes Immun.* 2007;8:552-559. DOI 10.1038/sj.gene.6364414.
- Rajan S., Ye J., Bai S., Huang F., Guo Y.-L. NF- κ B, but not p38 MAP kinase, is required for TNF- α -induced expression of cell adhesion molecules in endothelial cells. *J. Cell Biochem.* 2008;105(2):477-486. DOI 10.1002/jcb.21845.
- Sarwar N., Butterworth A.S., Freitag D.F., Gregson J., Willeit P., Gorman D.N., Gao P., ... Samani N.J., Kaptoge S., Di Angelantonio E., Harari O., Danesh J. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet.* 2012;379:1205-1213. DOI 10.1016/S0140-6736(11)61931-4.
- Sprague A.H., Khalil R.A. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem. Pharmacol.* 2009;78(6):539-552. DOI 10.1016/j.bcp.2009.04.029.
- The Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis (IL6R MR) Consortium. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet.* 2012;379(9822):1214-1224. DOI 10.1016/S0140-6736(11)61931-4.
- Virdis A., Dell'Agnello U., Taddei S. Impact of inflammation on vascular disease in hypertension. *Maturitas.* 2014;78(3):179-183. DOI 10.1016/j.maturitas.2014.04.012.
- Wang Y., Nie W., Yao K., Wang Z., He H. Interleukin 6 induces expression of NADPH oxidase 2 in human aortic endothelial cells via long noncoding RNA MALAT1. *Pharmazie.* 2016;71(10):592-597. DOI 10.1691/ph.2016.6598.
- Wei Z., Jiang W., Wang H., Li H., Tang B., Liu B., Jiang H., Sun X. The IL-6/STAT3 pathway regulates adhesion molecules and cytoskeleton of endothelial cells in thromboangiitis obliterans. *Cell. Signal.* 2018;44:118-126. DOI 10.1016/j.cellsig.2018.01.015.
- Weiss T.W., Arnesen H., Seljeflot I. Components of interleukin-6 trans-signaling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness. *Metab. Clin. Exp.* 2013;62:1008-1013. DOI 10.1016/j.metabol.2013.01.019.
- Wenzel P., Knorr M., Kossmann S., Stratmann J., Hausding M., Schuhmacher S., Karbach S.H., Schwenk M., Yogev N., Schulz E., Oelze M., Grabbe S., Jonuleit H., Becker C., Daiber A., Waisman A., Münzel T. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *Circulation.* 2011;124(12):1370-1381. DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.034470.
- Wolf J., Rose-John S., Garbers C. Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system. *Cytokine.* 2014;70:11-20. DOI 10.1016/j.cyto.2014.05.024.

ORCID ID

L.V. Topchieva orcid.org/0000-0001-8697-2086
V.A. Korneva orcid.org/0000-0003-2231-4695
I.V. Kurbatova orcid.org/0000-0001-7620-7065

Благодарности. Исследования выполнены в рамках госзадания (тема 0218-2019-0077) на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 26.03.2019. После доработки 19.09.2019. Принята к публикации 21.09.2019.