

**Latvijas Universitāte**

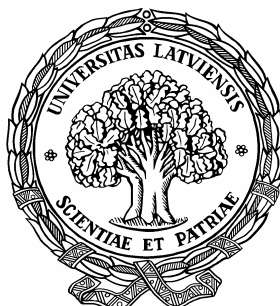
# PROMOCIJAS DARBS

**Rīga**

**2006. gads**

**Latvijas Universitāte**

Medicīnas fakultāte



**Interleikīnu ģenētisko variāciju ietekme  
uz koronārās sirds slimības gaitu**

**Gustavs Latkovskis**

PROMOCIJAS DARBS

*Medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai  
Internajā medicīnā*

**Rīga**

**2006. gads**

**Darbs veikts Paula Stradiņa Klīniskās Universitātes slimnīcas Latvijas Kardioloģijas centrā un Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā.**

**Darba vadītāji:**

*Asoc. prof., Dr. med.*

**Uldis Kalniņš<sup>†</sup>**

LU Medicīnas fakultāte

Latvijas Kardioloģijas centrs

*Dr. biol.*

**Normunds Līcis**

Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

**Recenzenti:**

*Dr. habil. med.*

**Andris Vītols**

LU Kardioloģijas institūts

*Prof., Dr. habil. med.*

**Andrejs Kalvelis**

Rīgas Stradiņa Universitāte

*Prof. emeritus, Dr. habil. biol.*

**Elmārs Grēns**

Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

**Darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā Fonda atbalstu**



## Anotācija

**Ievads.** Koronārās sirds slimības (KSS) klīniskā gaita var izpausties gan kā agrīns miokarda infarkts (MI) ar augstu fatālu komplikāciju risku, gan kā ilgstoši stabila stenokardija ar relatīvi labvēlīgu prognozi. Aterosklerotiskās pangas ruptūru, kas izraisa MI, rada iekaisums, kura aktivitāti regulē starpšūnu mediatori - interleikīni (IL). Šā darba mērķis bija noskaidrot, vai IL ģenētiskās variācijas ietekmē KSS klīnisko gaitu.

**Darba uzdevumi.** Primārais: salīdzināt IL-1 $\beta$ , IL-1 receptora antagonistu un IL-6 (attiecīgi IL-1B, IL-1RN un IL-6 gēnu) ģenētisko variāciju prevalences atšķirības slimniekiem ar stabilu un nestabilu KSS gaitu. Sekundārie: analizēt šo ģenētisko faktoru ietekmi uz (i) citiem klīniski angiogrāfiskiem kritērijiem un (ii) iekaisuma marķiera - augstas sensitivitātes C reaktīvā proteīna (hs-CRP) - līmeni.

**Metodes.** Tika analizēti 686 ar koronāro angiogrāfiju izmeklētu slimnieku dati, par kuriem tika apkopota detalizēta fenotipiska informācija, pievēršot uzmanību KSS sākotnējai klīniskai manifestācijai. Tika noteikti IL polimorfismi [IL-1B (+3954) C/T, IL-1B (-511) C/T, IL-1RN (VNTR), IL-6 (-596) G/A, IL-6 (-572) G/C, IL-6 (-373) AnTn un IL-6 (-174) G/C] un IL-6 promotora apvidus polimorfismu veidotie haplotipi. Primārā mērķa skaidrošanai tika izmantotas divas pieejas. Pirmkārt, tika salīdzināti slimnieki ar stabilu (slodzes stenokardija vismaz vienu gadu bez MI; n=50) un nestabilu (MI pirmā gada laikā; n=201) KSS sākotnējo gaitu. Otrkārt, lielākā grupā (n=571) tika analizēts laiks, kas pagājis no pirmajiem KSS simptomiem līdz pirmajam MI. Iekaisuma marķiera hs-CRP analīzei tika atlasīti 624 slimnieki. Rezultāti tika koriģēti arī ar daudzmainīgām analīzēm, lai ņemtu vērā neģenētiskos faktoros.

**Rezultāti.** Starp slimniekiem ar stabilu KSS sākotnējo gaitu izplatītākā IL-6 haplotipa AG8/12C (Hap\*1) homozigoti bija sastopami gandrīz divreiz biežāk nekā starp slimniekiem ar nestabilu sākotnējo gaitu (attiecīgi 30,0% un 16,4%;  $\text{Exp}(\beta)=2,41$ ;  $p=0,027$ ). Salīdzinot laika intervālu kopš pirmo KSS simptomu sākuma līdz pirmajam MI, Hap\*1 homozigotiem MI attīstījās retāk kā pārējiem slimniekiem, un šī atšķirība sasniedza statistiskās ticamības robežu pirmā mēneša laikā ( $p=0,050$ ), kļuva pārliecinoši nozīmīga pēc viena gada ( $p=0,009$ ) un tāda saglabājās arī vēlāk nekā pēc viena gada ( $p=0,003$ ). No pārējiem kritērijiem Hap\*1 skaits (0, 1 vai 2) korelēja ar biežāku vainagartēriju oklūziju (attiecīgi 31,9%, 36,6% un 44,2%;  $p=0,025$ ), kas bija īpaši izteikti slimniekiem pēc MI (n=380; attiecīgi 43,4%, 48,4% un 67,9%;  $p=0,001$ ), bet slimniekiem bez MI - ar statistiski nenozīmīgu pretēju tendenci (n=171; attiecīgi 31,7%, 31,0% un 23,3%;  $p=0,391$ ). IL-6 Hap\*1 korelēja arī ar paaugstinātu hs-CRP līmeni ( $>3$  mg/l): to novēroja 27,5%, 32,7% un 42,1% slimnieku ar attiecīgi nevienu, vienu vai diviem Hap\*1 ( $p=0,013$ ).

**Secinājumi.** Atrasta saistība starp IL-6 haplotipiem un KSS klīnisko gaitu. IL-6 promotora rajona izplatītākā AG8/12C haplotipa homozigotiem biežāk vērojama stabila KSS sākotnējā klīniskā gaita un zemāks MI risks pirmā gada laikā kopš simptomu sākuma. Rezultāti norāda uz lēnāku un stabilāku aterosklerotiskās pangas progresēšanu šā haplotipa homozigotiem. Konstatētā AG8/12C haplotipa saistība ar augstāku bazālā iekaisuma līmeni un stabilāku sākotnējo klīnisko gaitu atbalsta hipotēzi par haplotipa ambivalentu ietekmi uz bazālu un inducētu iekaisuma aktivitāti.

## Anotācija angļu valodā (abstract)

**Introduction.** Clinical course of coronary heart disease (CHD) may vary considerably and manifest as potentially fatal myocardial infarction (MI) or as stable angina associated with relatively benign prognosis. Rupture of atherosclerotic plaque leading to MI is caused by inflammation, activity of which is regulated by inter-cellular mediators - interleukins (IL). The aim of this study was to evaluate whether genetic variations of IL have association with clinical course of CHD.

**Objectives.** The primary objective was to compare prevalence of genetic variations of IL-1B, IL-1RN and IL-6 (genes coding for IL-1 $\beta$ , IL-1 receptor antagonist and IL-6, respectively) in patients with stable or unstable initial clinical course of CHD. The secondary objective was to analyze effect of these variations on (i) several clinical and angiographic criteria and (ii) levels of an inflammatory marker, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP).

**Methods.** We analyzed data on 686 patients for whom elective coronary angiography was performed. Information on phenotype included details on initial clinical presentation and course of CHD. In all subjects, polymorphisms [IL-1B (+3954) C/T, IL-1B (-511) C/T, IL-1RN (VNTR), IL-6 (-596) G/A, IL-6 (-572) G/C, IL-6 (-373) AnTn and IL-6 (-174) G/C] as well as haplotypes of IL-6 were determined. Two approaches were used for the primary objective. Firstly, we compared patients with stable and unstable initial course of CHD, defined as angina for more than one year without MI (n=50) and MI within first year (n=201), respectively. Secondly, time from the onset of first CHD symptoms to first MI was analyzed in larger group of patients (n=571). For analysis of associations with CRP levels 624 patients were selected. All results were adjusted for conventional risk factors by multivariate analyses.

**Results.** Homozygotes of the most common IL-6 haplotype AG8/12C (Hap\*1) were almost twice more frequent among patients with stable initial course of CHD compared to unstable group (30.0% and 16.4%, respectively;  $\text{Exp}(\beta)=2.41$ ;  $p=0.027$ ). When time from the onset of CHD to the first MI was compared, individuals homozygous for Hap\*1 less frequently developed MI during first month ( $p=0.050$  at one month), and statistical significance of this difference increased at one year ( $p=0.009$ ) and after more than one year ( $p=0.003$ ). Number of Hap\*1 copies (0, 1 and 2) correlated with more frequently present coronary artery occlusions (31.9%, 36.6% and 44.2%, respectively;  $p=0.025$ ). This finding was significant in patients after MI (n=380; 43.4%, 48.4% and 67.9%, respectively;  $p=0.001$ ), while non-significant opposite trend was observed in those without history of MI (n=171; 31.7%, 31.0% and 23.3%, respectively;  $p=0.391$ ). IL-6 Hap\*1 correlated with more frequently elevated hs-CRP levels (>3 mg/L), which was found in 27.5%, 32.7% and 42.1% of patients with none, one and two copies of Hap\*1, respectively ( $p=0.013$ ).

**Conclusions.** We found an association of IL-6 haplotypes with clinical course of CHD. Homozygosity of the most common haplotype AG8/12C of IL-6 gene is associated with more stable initial course of CHD and lower risk of MI during the first year since the symptom onset. Findings indicate towards more gradual and stable progression of atherosclerotic plaque in these individuals. Observed associations of AG8/12C haplotype with higher basal CRP levels and more stable initial course of CHD support hypothesis of ambivalent effect of the haplotype on basal and induced inflammatory activity.

## Anotācija vācu valodā (abstraktum)

**Einleitung.** Der klinische Verlauf der Koronaren Herzkrankheit (KHK) kann beträchtlich variieren und sich sowohl als teilweise tödlicher Myokardinfarkt (MI) als auch stabile Angina, die mit einer relativ guten Prognose assoziiert ist, manifestieren. Die Ursache für die Ruptur eines arteriosklerotischen Plaques, welche zum MI führt, ist eine Entzündungsreaktion, deren Aktivität von interzellulären Mediatoren reguliert wird: den Interleukinen. Ziel dieser Studie war es, herauszufinden, ob Varianten des IL einen Effekt auf den klinischen Verlauf der KHK haben.

**Ziele.** Es war unser vorrangiges Ziel, die Prävalenz genetischer Varianten des IL-1B, IL-1RN und IL-6 bei Patienten mit initial stabilem und instabilem Verlauf der KHK zu vergleichen. Weiterhin wollten wir den Effekt dieser Varianten bezüglich mehrerer klinischer und angiographischer Parameter sowie der Höhe eines Entzündungsparameters, dem hochsensitiven C-reaktiven Protein (hs-CRP), analysieren.

**Methoden.** Wir haben die Daten von 686 Patienten analysiert, bei denen eine Koronarangiographie durchgeführt wurde. Detaillierte Informationen über den Phänotyp beinhalteten hierbei schwerpunktmässig das initiale klinische Erscheinungsbild und den Verlauf der KHK. Bei allen Testpersonen wurden sowohl Polymorphismen bei IL-1B (+3954) C/T, IL-1B (-511) C/T, IL-1RN (VNTR), IL-6 (-596) G/A, IL-6 (-572) G/C, IL-6 (-373) AnTn und IL-6 (-174) G/C als auch Haplotypen des IL-6 bestimmt. Es gab zwei Ansätze für das vorrangige Ziel. Zum einen haben wir Patienten mit stabilem und instabilem Verlauf der KHK, welcher als Angina seit >1 Jahr ohne MI (n=50) bzw. MI innerhalb des ersten Jahres (n=201) definiert ist, miteinander verglichen. Zum zweiten wurde die Zeit zwischen Beginn der ersten KHK Symptome bis zum ersten MI in zwei grossen Patientengruppen (n=571) untersucht. Für die Analyse von Zusammenhängen mit der Höhe des CRP wurden 624 Patienten ausgewählt. Alle Ergebnisse wurden mit Hilfe multivarianter Analysen auf konventionelle Risikofaktoren hin untersucht.

**Resultate.** Homozygotie des weitverbreiteten IL-6 Haplotypen AG8/12C (Hap\*1) war nahezu zweimal häufiger bei Patienten mit initialem stabilem Verlauf der KHK im Vergleich zur instabilen Gruppe (entsprechend 30,0% und 16,4%;  $\text{Exp}(\beta)=2,41$ ;  $p=0,027$ ). Beim Vergleich der Zeit zwischen Beginn der KHK bis zum ersten MI zeigte sich ein geringeres Auftreten eines MI innerhalb des ersten Monats ( $p=0,050$ ) bei Homozygoten von Hap\*1. Die statistische Signifikanz dieses Unterschiedes stieg bei einem Jahr ( $p=0,009$ ) und bei mehr als einem Jahr ( $p=0,003$ ) an.

Die Anzahl der Hap\*1 Kopien (0, 1 und 2) korrelierte mit häufiger bestehenden Koronararterienverschlüssen (entsprechend 31,9%, 36,6% und 44,2%;  $p=0,025$ ). Dieses Ergebnis war signifikant bei Patienten nach MI (n=380; entsprechend 43,4%, 48,4% und 67,9%), während ein nicht-signifikanter gegensätzlicher Trend bei Patienten ohne MI beobachtet werden konnte (n=171; entsprechend 31,7%, 31,0% und 23,3%;  $p=0,391$ ). IL-6 Hap\*1 korrelierte mit den häufig erhöhten hs-CRP (>3 mg/L) Werten, was bei 27,5%, 32,7% und 42,1% der Patienten mit keiner, einer bzw. zwei Kopien von Hap\*2 gefunden werden konnte ( $p=0,013$ ).

**Ergebnis.** Wir konnten einen Zusammenhang zwischen IL-6 Haplotypen und dem klinischen Verlauf der KHK finden. Homozygotie des weitverbreiteten Haplotypen AG8/12C des IL-6 Gens steht im Zusammenhang mit dem stabilen klinischen Verlauf der KHK und einem verminderten Risiko für einen MI während des ersten Jahres nach Beginn der Symptome. Die Ergebnisse weisen auf eine allmählichere und stabilere Progression des arteriosklerotischen Plaques bei diesen Individuen hin.

În Hinblick auf den beobachteten Zusammenhang zwischen AG8/12C und erhöhter basaler inflammatorischer Aktivität unterstützen all diese Ergebnisse die Hypothese eines ambivalenten Effektes des Haplotypen auf die basale und induzierte inflammatorische Aktivität.

## **Pateicības**

*Pirmkārt, vislielāko pateicību vēlos izteikt saviem vecākiem Velgai un Leonardam Latkovskiem, ar kuru gādību un atbalstu esmu varējis iegūt izglītību, kā arī par izpratni vēlākajos gados. Tāpat paldies visiem maniem tuviem cilvēkiem, radiem un draugiem, kas ir pacietuši to, ka laiks, ko labprāt veltītu viņiem, izmantots šā darba tapšanā.*

*Ar pateicību vēlos pieminēt savu pirmo darba vadītāju, asociēto profesoru Uldi Kalniņu, kura vadībā Latvijas Kardioloģijas centrs kļuva par augsti attīstītu klīniski zinātnisku bāzi un kurš atbalstīja manu vēlmi aizsākt kardiovaskulāro slimību ģenētikas pētniecību. Esmu ļoti pateicīgs savam darba vadītājam Dr. biol. Normundam Līcim no Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra, ar kuru no nulles punkta esam izveidojuši un attīstījuši šo projektu un kurš grūtā brīdī uzņēmās turpināt mana darba vadīšanu.*

*Īpaši vēlos pateikties Latvijas Kardioloģijas centra vadītājam Dr. med. Andrejam Ērglim par pozitīvo attieksmi pret zinātniskās pētniecības ierosmēm un progresīvo vidi, kas ļauj šīs ieceres īstenot. Nevaru nepieminēt atbalstu, ko darba izstrādes laikā esmu jutis no saviem kolēģiem Latvijas Kardioloģijas centrā. Īpaši pateicos Dr. Sandai Jēgerei, Dr. Gintai Kamzolai, Dr. Aijai Mačai, kā arī jaunajām kolēģēm Dr. Laurai Kreicburgai, Dr. Milanai Zabunovai un Dr. Marinai Berzinai, kas dažādos laikposmos piedalījušās datubāzes fenotipiskās informācijas vākšanā. Paldies medicīnas māsai Sarmītei Drullei par precīzo darbu, palīdzot ar datubāzei nepieciešamiem paraugiem un laboratoriskiem izmeklējumiem, kā arī studentei Dacei Juhnevičai, kas ar entuziasmu iesaistījusies zinātniskajā darbā.*

*Paldies arī profesorei Renātei Ligerei par vērtīgiem padomiem promocijas darba sagatavošanas beiguposmā.*

*Šis darbs pamatā tika veikts par Latvijas Zinātnes padomes granta līdzekļiem, un es ceru, ka Latvijas valsts atbalsts kardiovaskulāro slimību un to ģenētikas zinātniskiem pētījumiem nākotnē pieaugs. Ar lielu pateicību vēlos atzīmēt Eiropas Sociālo fondu un Latvijas Universitāti par piešķirto pētniecības darba atbalsta grantu, kas būtiski palīdzējis mana darba mērķu īstenošanai. Sirsnīgs paldies Latvijas Universitātes Morberga stipendijas komitejai, kā arī Latvijas Zinātņu akadēmijai un Latvijas Gāzei par piešķirtajām stipendijām, atzīstot manu zinātnisko darbību.*

**Gustavs Latkovskis**

2006. gada jūnijā

## Saīsinājumi

ABL-H	- Augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns
AKEI	- Angiotenzīnu konvertējošā enzīma inhibitori
AKS	- Akūts koronārs sindroms
ANOVA	- Variācijas analīze (statistikas metode; angļu val., <i>analysis of variance</i> )
BB	- Bēta blokatori
BSTE	- [AKS] bez ST segmenta elevācijas
CABG	- Vainagartēriju šuntēšana (angļu val., <i>coronary artery bypass grafting</i> )
CD	- Cukura diabēts
CMV	- Citomegalovīruss
CRP	- C-reaktīvais proteīns
DNS	- Dezoksiribonukleīnskābe
Δ	- Delta (parametra izmaiņas dinamikā)
ECTIM	- Pētījuma nosaukums (franču val., <i>Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde</i> )
EDTA	- Etilēndiamīntetraacetāts (antikoagulants)
FG	- Fibrinogēns
gp	- Glikoproteīns
HZ	- Homozigoti
IL	- Interleikīns
IL-1RI	- Interleikīna-1 pirmā tipa receptors
IL-1RII	- Interleikīna-1 otrā tipa receptors
IL-1Ra	- Interleikīna-1 receptora antagonists
IL-1B	- Interleikīna-1β gēns
IL-1β	- Interleikīns-1β
IL-1RN	- Interleikīna-1 receptora antagonista gēns
IL-6	- Interleikīns-6
IMT	- Intīmas-medijas biezums (angļu val., <i>intima-media thickness</i> )
IVUS	- Intarvaskulāra ultrasonoskopija
KH	- Kopējais holesterīns
KSS	- Koronārā sirds slimība
KV	- Kardiovaskulār(ai)s
KVS	- Kardiovaskulārās slimības
LD	- Nelīdzsvarota saistība (angļu val.; <i>linkage disequilibrium</i> )
LPS	- Lipopolisaharīds
LURIC	- Pētījuma nosaukums (angļu val., <i>Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study</i> )
MAS	- Multiplu artēriju slimība
MI	- Miokarda infarkts
MPV	- Mākslīgā plaušu ventilācija
mRNS	- Matricas ribonukleīnskābe
MV	- Daudzmainīgs/a (angļu val., <i>multivariate</i> )
MVA	- Daudzmainīgo analīze (angļu val., <i>multivariate analysis</i> )
NSt	- Nestabila stenokardija
NS	- Statistiski nenozīmīgs (angļu val., <i>non-significant</i> )
OR	- Izredžu attiecība (angļu val., <i>odds ratio</i> )
PCR	- Polimerāžu ķēžu reakcija (angļu val., <i>polymerase chain reaction</i> )
PKN	- Pēkšņa kardiāla nāve



PTA	- Perkutāna translumināla angioplastija
PTCA	- Perkutāna translumināla koronārā angioplastija (angļu val., <i>percutaneous transluminal coronary angioplasty</i> )
SD	- Standartdeviācija
SK	- Standartklūda
SKG	- Slimnieku kontroles grupa
SNP	- Viena nukleotīda polimorfisms (angļu val., <i>single nucleotide polymorphism</i> )
SSt	- Stabila stenokardija
TG	- Triglicerīdi
TI	- Ticamības intervāls
TNF- $\alpha$	- Tumor- nekrotizējošais faktors- $\alpha$
tPA	- Audu plazminogēna aktivators
UV	- Vienmainīgs (angļu val., <i>univariate</i> )
UVA	- Vienmainīgā analīze (angļu val., <i>univariate analysis</i> )
VAS	- Vienas artērijas slimība
VB	- Veseli brīvprātīgie
VK	- Veselo kontroles grupa
VNTR	- Mainīga skaita tandēmu atkārtojumi (angļu val., <i>variable number tandem repeat</i> )
Vs.	- Salīdzinot ar; pret (latīņu val., <i>versus</i> )
vWF	- fon Villebranda faktors
WOSCOPS	- Pētījuma nosaukums (angļu val., <i>West of Scotland Prevention Study</i> )
ZBL-H	- Zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns

## Satura rādītājs

Anotācija	i
Anotācija angļu valodā (abstract)	ii
Anotācija vācu valodā (abstraktum)	iii
Pateicības	iv
Saīsinājumi	v
Satura rādītājs	vii
Tabulu saraksts	ix
Diagrammu saraksts	x
Attēlu saraksts	xi
Tabulu saraksts angļu valodā (list of tables)	xii
Diagrammu saraksts angļu valodā (list of charts)	xiii
Attēlu saraksts angļu valodā (list of figures)	xiv
1. Ievads	1
2. Literatūras apskats	3
2.1. Aterosklerozes patoģenēze un pangas evolūcija: iekaisuma nozīme AKS attīstībā	3
2.2. KSS pirmā manifestācija un slimības gaita: slimnieku raksturojums	6
2.3. Iekaisuma marķieri un KSS risks	9
2.4. Iekaisuma marķieri un KSS gaita	10
2.5. Citokīni. Interleikīnu raksturojums	11
2.5.1. Interleikīna-1 grupa	12
2.5.2. Interleikīns-6	14
2.6. Interleikīnu līmeņa saistība ar KSS un tās dažādām formām	15
2.7. Interleikīna-1 $\beta$ , interleikīna-1Ra un interleikīna-6 gēnu un biežāko polimorfismu raksturojums	16
2.7.1. Interleikīna-1 $\beta$ gēns un polimorfismi	16
2.7.2. Interleikīna-1Ra gēns un polimorfismi	17
2.7.3. IL-6 gēns, promotora polimorfismi un haplotipi	18
2.8. Interleikīnu ģenētisko variāciju funkcionālās nozīmes datu interpretācija	19
2.9. IL polimorfismu ietekme uz transkripcijas aktivitāti un to saistība ar KV notikumiem	22
2.9.1. IL-6(-174) G/C polimorfisms	22
2.9.2. IL-6(-572) G/C polimorfisms	34
2.9.3. IL-6 -596 G/A polimorfisms	35
2.9.4. IL-6(-373) AnTn polimorfisms	35
2.9.5. IL-6 promotora haplotipi	36
2.9.6. IL-1B (+3954) C/T polimorfisms	38
2.9.7. IL-1B (-511) C/T polimorfisms	39
2.9.8. IL-1RN (VNTR) polimorfisms	40
2.10. Darba aktualitāte un novitāte	43
3. Darba mērķis	44
4. Darba uzdevumi	44
5. Darba metodes	45
5.1. Pētījuma dizains un kopējās slimnieku grupas atlasē principi	45
5.2. Apkopotā informācija par fenotipu	46
5.3. Analizējamo slimnieku apakšgrupu atlasē un izslēgšanas kritēriji	47
5.4. Biomolekulārās analīzes	49
5.5. Statistiskās apstrādes metodes	52

6. Rezultāti	55
6.1. Pētījuma grupas fenotipiskais un ģenētiskais raksturojums	55
6.2. Interleikīnu ģenētisko variāciju saistība ar KSS klīniskiem un angiogrāfiskiem kritērijiem	59
6.2.1. Slimnieki ar stabilu un nestabilu KSS sākotnējo gaitu	59
6.2.2. Laiks līdz pirmajam MI	67
6.2.3. Vainagartēriju oklūzija	68
6.2.4. Oklūziju skaits	74
6.2.5. Slimnieki ar MI un vainagartērijas oklūziju	76
6.2.6. Slimnieki ar un bez KSS	82
6.2.7. KSS attīstības vecums	83
6.2.8. Pirmā MI attīstības vecums	85
6.2.9. Miokarda infarkts anamnēzē	87
6.3. Interleikīnu ģenētiskās variācijas un CRP līmenis	87
6.3.1. Pilotpētījuma rezultāti	87
6.3.2. Paplašinātā datu analīze	91
7. Diskusija	110
8. Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes	122
9. Secinājumi	123
10. Vēres	125

## Tabulu saraksts

<b>2.1. tabula.</b>	Slimnieku ar stabilu un nestabilu KSS gaitu salīdzinājums	8
<b>2.2. tabula.</b>	Iekaisuma raksturlielumi, kas varētu tikt izmantoti kā potenciālie kardiovaskulārā riska marķieri.	10
<b>2.3. tabula.</b>	Interleikīnu iedalījums pēc to struktūras/receptoru līdzībām un bioloģiskās iedarbības aterosklerozes patoģenēzē.	12
<b>2.4. tabula.</b>	IL-1RN (VNTR) alēļu raksturojums.	17
<b>2.5. tabula.</b>	IL-6 haplotipu raksturojums.	19
<b>2.6. tabula.</b>	<i>In vitro</i> pētījumi, kuros analizēta gēnu ekspresijas asociācija ar IL-1 klāsteru vai IL-6 polimorfismiem.	23
<b>2.7. tabula.</b>	<i>In vivo</i> un klīniskie pētījumi, kuros analizēta asociācija ar IL-6 polimorfismiem.	24
<b>2.8. tabula.</b>	<i>In vivo</i> un klīniskie pētījumi, kuros analizēta asociācija ar IL-1 klāsteru polimorfismiem.	28
<b>2.9. tabula.</b>	Interleikīna-6 haplotipu funkcionālo īpašību pētījumi: ietekme uz IL-6 ekspresiju.	37
<b>6.1.1. tabula.</b>	Slimnieku kopas (n=686) neģenētisko parametru raksturojums.	56
<b>6.1.2. tabula.</b>	Pētījuma kopas analizēto ģenētisko variāciju raksturojums.	57
<b>6.1.3. tabula.</b>	Interleikīna-6 gēna promotora rajona haplotipu raksturojums pētījuma kopā.	58
<b>6.2.1. tabula.</b>	Neģenētisko riska faktoru un saņemtās terapijas salīdzinājums starp trijām klīniski-angiogrāfiskajām slimnieku grupām.	60
<b>6.2.2. tabula.</b>	Neģenētisko riska faktoru asociācija ar stabilu, salīdzinot ar nestabilu, KSS gaitu (MVA).	61
<b>6.2.3. tabula.</b>	Ģenētisko variāciju salīdzinājums slimniekiem ar stabilu (n=50) un nestabilu (n=201) KSS sākotnējo gaitu.	63
<b>6.2.4. tabula.</b>	Ģenētisko variāciju salīdzinājums slimniekiem ar un bez vainagartēriju oklūzijām (n=686).	70
<b>6.2.5. tabula.</b>	Ģenētiskās variācijas un kombinētais kritērijs: vainagartērijas oklūzija un miokarda infarkts (n=686).	77
<b>6.3.1. tabula.</b>	Pilotpētījumā ietvertu slimnieku raksturojums.	88
<b>6.3.2. tabula.</b>	Pilotpētījumā ietvertu slimnieku ģenētisko variāciju raksturojums.	88
<b>6.3.3. tabula.</b>	C-reaktīvā proteīna līmenis atkarā no IL-1B (+3954) un IL-1RN (VNTR) polimorfismiem.	90
<b>6.3.4. tabula.</b>	Paplašinātās analīzes slimnieku kopas raksturojums (n=624).	91
<b>6.3.5. tabula.</b>	C-reaktīvā proteīna (log-transformēto vērtību) salīdzinājums atkarā no IL ģenētiskajām variācijām (n=624).	93
<b>6.3.6. tabula.</b>	Paaugstināta CRP līmeņa (>3 mg/L) sastopamības biežums atkarā no ģenētiskajām variācijām (n=624).	97
<b>6.3.7. tabula.</b>	IL-1B (+3954) genotipu sadalījums personām ar KSS un bez KSS.	109

## Diagrammu saraksts

<b>6.2.1. diagramma.</b>	IL-6 promotora Hap*1 homozigotu prevalence starp personām ar angiogrāfiski neapstiprinātu KSS, slimniekiem ar stabilu un nestabilu slimības gaitu.	62
<b>6.2.2. diagramma.</b>	Hap*1 skaita sadalījums slimniekiem ar stabilu un nestabilu KSS sākotnējo gaitu.	62
<b>6.2.3. diagramma.</b>	Pirmā miokarda infarkta attīstības laiks kopš KSS klīniskās izpausmes sākuma IL-6 promotora 1. haplotipa homozigotiem, salīdzinot ar pārējiem slimniekiem: kumulatīvā incidence.	68
<b>6.2.4. diagramma.</b>	Vainagartēriju oklūziju biežums atkarā no IL-6 Hap*1 skaita.	69
<b>6.2.5. diagramma.</b>	Okludēto artēriju skaits visā slimnieku grupā (n=686).	74
<b>6.2.6. diagramma.</b>	Pirmā haplotipa saistība ar okludēto artēriju skaitu (n=686).	74
<b>6.2.7. diagramma.</b>	Pirmā haplotipa saistība ar okludēto artēriju skaitu slimniekiem ar MI anamnēzē (n=381).	75
<b>6.2.8. diagramma.</b>	Pirmā haplotipa saistība ar okludēto artēriju skaitu slimniekiem bez MI anamnēzē (n=170).	75
<b>6.2.9. diagramma.</b>	Kombinētā kritērija (vainagartērijas oklūzija pēc pārciesta miokarda infarkta) prevalence atkarā no Hap*1 skaita (n=686).	76
<b>6.2.10. diagramma</b>	Kombinētā kritērija (vainagartērijas oklūzija pēc pārciesta miokarda infarkta) prevalence atkarā no Hap*3 skaita (n=686).	81
<b>6.2.11. diagramma.</b>	Angiogrāfiski apstiprinātas vainagartēriju slimības biežums atkarā no Hap*1 skaita (n=654).	82
<b>6.2.12. diagramma.</b>	Angiogrāfiski apstiprinātas vainagartēriju slimības biežums atkarā no Hap*3 skaita (n=654).	83
<b>6.2.13. diagramma.</b>	Koronārās sirds slimības pirmo simptomu vēlāka attīstība slimniekiem ar IL-1B (+3954) TT genotipu (vidējais vecums gados, pēc MVA).	84
<b>6.2.14. diagramma.</b>	Koronārās sirds slimības pirmo simptomu manifestācijas vecums (gados) atkarā no Hap*1 un Hap*2 skaita (pēc MVA).	84
<b>6.2.15. diagramma.</b>	IL-6 Hap*1 kopiju skaits un pirmā MI attīstības vecums (MVA; n=364).	85
<b>6.2.16. diagramma.</b>	IL-1B (+3954) genotipi un pirmā MI attīstības vecums (MVA; n=364).	86
<b>6.2.17. diagramma.</b>	IL-6 (-572) genotipi un pirmā MI attīstības vecums (MVA; n=364).	86
<b>6.3.1. diagramma.</b>	Log-CRP atkarā no 1. un 2. haplotipa skaita (pēc MVA).	101
<b>6.3.2. diagramma.</b>	Augsts CRP (>3 mg/L) atkarā no 1. un 2. haplotipa skaita (pēc MVA).	101
<b>6.3.3. diagramma.</b>	CRP līmenis (Log-CRP) slimniekiem tikai ar 1. un/vai 2. haplotipu: 1/1 (n=145), 1/2 (n=127), 2/2 (n=25).	102
<b>6.3.4. diagramma.</b>	Log-CRP atkarā no 6. haplotipa klātienēs (pēc MVA).	103

<b>6.3.5. diagramma.</b>	Slimnieki ar CRP>3 mg/L atkarā no 6. haplotipa klātienes (pēc MVA).	103
<b>6.3.6. diagramma.</b>	Log-CRP vidējās vērtības atkarā no AnTn variantiem (UVA).	105
<b>6.3.7. diagramma.</b>	Log-CRP salīdzinājums slimniekiem ar 1/2, 1/3, 1/4 un 1/6 haplotipu variantiem (MVA).	105
<b>6.3.8. diagramma.</b>	AnTn četru reto variantu Log-CRP vidējās vērtības salīdzinājums ar biežāko A8T12 alēli (MVA).	106
<b>6.3.9. diagramma.</b>	Log-CRP līmenis slimniekiem ar (n=513) un bez (n=80) KSS atkarā no IL-1B (+3954) genotipa (MVA).	108
<b>6.3.10. diagramma.</b>	Paaugstināts CRP līmenis >3 mg/L slimniekiem ar (n=513) un bez (n=80) KSS atkarā no IL-1B (+3954) genotipa (MVA).	108

## Attēlu saraksts

<b>2.1. attēls.</b>	KSS klīnisko formu patoģenēze.	5
<b>2.2. attēls.</b>	C-reaktīvā proteīna sintēzes galvenie regulējošie mehānismi.	14
<b>2.3. attēls.</b>	Četri haplotipus veidojošie polimorfismi IL-6 promotora rajonā.	18

## List of tables

<b>Table 2.1.</b>	Comparison of patients with stable and unstable course of CHD.	8
<b>Table 2.2.</b>	Inflammatory markers potentially useful as markers of cardiovascular risk.	10
<b>Table 2.3.</b>	Classification of interleukins according to their structural/receptor similarities and their biological role in atherosclerosis.	12
<b>Table 2.4.</b>	Charaterization of IL-1RN (VNTR) alleles.	17
<b>Table 2.5.</b>	Charaterization of IL-6 haplotypes.	19
<b>Table 2.6.</b>	<i>In vitro</i> studies analyzing association of gene expression with polymorphisms in IL-1 cluster and IL-6.	23
<b>Table 2.7.</b>	<i>In vivo</i> and clinical studies analyzing association with IL-6 polymorphisms.	24
<b>Table 2.8.</b>	<i>In vivo</i> and clinical studies analyzing association with IL-1 cluster polymorphisms.	28
<b>Table 2.9.</b>	Studies analyzing effect of IL-6 haplotypes on gene expression.	37
<b>Table 6.1.1.</b>	Non-genetic parametrs of the patient sample (n=686).	56
<b>Table 6.1.2.</b>	Characterization of genetic variations of the patient sample.	57
<b>Table 6.1.3.</b>	IL-6 promoter region haplotypes found in the study population.	58
<b>Table 6.2.1.</b>	Comparison of non-genetic factors and drug therapy in the three clinially-angiographic patient groups.	60
<b>Table 6.2.2.</b>	Association of non-genetic risk factors with stable versus unstable course of CHD (multivariate analysis).	61
<b>Table 6.2.3.</b>	Comparison of genetic variations in patients with stable (n=50) and unstable (n=201) initial course of CHD.	63
<b>Table 6.2.4.</b>	Comparison of genetic variations in patients with and without coronary artery occlusions (n=686).	70
<b>Table 6.2.5.</b>	Genetic variations and combined criterion: coronary artery occlusion and myocardial infarction (n=686).	77
<b>Table 6.3.1.</b>	Characterization of patients included in the pilot study.	88
<b>Table 6.3.2.</b>	Genetic variations of patients included in the pilot study.	88
<b>Table 6.3.3.</b>	Levels of C-reactive protein according to polymorphisms of IL-1B (+3954) and IL-1RN (VNTR).	90
<b>Table 6.3.4.</b>	Characterization of patient sample included in the final analysis (n=624).	91
<b>Table 6.3.5.</b>	Comparison of logarythmically transformed C-reactive protein values according to IL genetic variations (n=624).	93
<b>Table 6.3.6.</b>	Prevalence of elevated CRP levels (>3 mg/L) according to genetic variations (n=624).	97
<b>Table 6.3.7.</b>	Distribution of IL-1B (+3954) genotypes in patients with and without CHD.	109

## List of charts

<b>Chart 6.2.1.</b>	Prevalence of IL-6 promoter Hap*1 homozygots among patients with no CHD on angiography and patients with stable or unstable course of CHD.	62
<b>Chart 6.2.2.</b>	Distribution of Hap*1 among patients with stable and unstable initial course of CHD.	62
<b>Chart 6.2.3.</b>	Time from the first symptoms of CHD to occurrence of the first MI in Hap*1 homozygots compared with others. Cumulative incidence.	68
<b>Chart 6.2.4.</b>	Coronary artery occlusions according to number of IL-6 Hap*1	69
<b>Chart 6.2.5.</b>	Frequency of coronary artery occlusions in the total sample (n=686).	74
<b>Chart 6.2.6.</b>	Association of Hap*1 with number of occluded arteries (n=686).	74
<b>Chart 6.2.7.</b>	Association of Hap*1 with number of occluded arteries in patients with history of MI (n=381).	75
<b>Chart 6.2.8.</b>	Association of Hap*1 with number of occluded arteries in patients with no history of MI (n=170).	75
<b>Chart 6.2.9.</b>	Prevalence of combined criterion (coronary artery occlusion and history of myocardial infarction) according to number of Hap*1 (n=686).	76
<b>Chart 6.2.10.</b>	Prevalence of combined criterion (coronary artery occlusion and history of myocardial infarction) according to number of Hap*3 (n=686).	81
<b>Chart 6.2.11.</b>	Prevalence of CHD confirmed on angiography according to number of Hap*1 (n=654).	82
<b>Chart 6.2.12.</b>	Prevalence of CHD confirmed on angiography according to number of Hap*3 (n=654).	83
<b>Chart 6.2.13.</b>	Development of first CHD symptoms at later age in patients with IL-1B (+3954) TT genotype (mean age, MVA).	84
<b>Chart 6.2.14.</b>	Age of development of first CHD symptoms according to number of Hap*1 and Hap*2 (MVA).	84
<b>Chart 6.2.15.</b>	Number of IL-6 Hap*1 and age when first MI developed (MVA; n=364).	85
<b>Chart 6.2.16.</b>	Genotypes of IL-1B (+3954) and age when first MI developed (MVA; n=364).	86
<b>Chart 6.2.17.</b>	IL-6 (-572) genotypes and age when first MI developed (MVA; n=364).	86
<b>Chart 6.3.1.</b>	Log-CRP according to Hap*1 and Hap*2 (MVA).	101
<b>Chart 6.3.2.</b>	Increased CRP levels (>3 mg/L) according to Hap*1 and Hap*2 (MVA).	101
<b>Chart 6.3.3.</b>	Levels of CRP (log-CRP) in carriers of haplotype 1 and/or haplotype 2: 1/1 (n=145), 1/2 (n=127), 2/2 (n=25).	102
<b>Chart 6.3.4.</b>	Log-CRP according presence of haplotype 6 (MVA).	103
<b>Chart 6.3.5.</b>	Patients with CRP >3 mg/L according to presence of haplotype 6 (MVA).	103



<b>Chart 6.3.6.</b>	Log-CRP according to AnTn variations (UVA).	105
<b>Chart 6.3.7.</b>	Comparison of log-CRP in patients with haplotypes 1/2, 1/3, 1/4 and 1/6 (MVA).	105
<b>Chart 6.3.8.</b>	Mean log-CRP in carriers of four minor AnTn variants compared to the wild-type A8T12 allele (MVA).	106
<b>Chart 6.3.9.</b>	Log-CRP in patients with (n=513) and without (n=80) CHD depending on IL-1B (+3954) genotype (MVA).	108
<b>Chart 6.3.10.</b>	High CRP levels (>3 mg/L) in patients with (n=513) and without (n=80) CHD depending on IL-1B(+3954) genotype (MVA).	108

## List of figures

<b>Figure 2.1.</b>	Pathogenesis of CHD clinical forms.	5
<b>Figure 2.2.</b>	Major mechanisms regulating synthesis of C-reactive protein.	14
<b>Figure 2.3.</b>	Four polymorphisms that constitute haplotypes in promoter of IL-6.	18

# 1. Ievads

Sirds un asinsvadu slimības šobrīd ir trešais biežākais nāves cēlonis visā pasaulē un galvenais nāves cēlonis rietumvalstīs (*Murray & Lopez, 1997*). Koronārā sirds slimība (KSS), ko izraisa sirds vainagartēriju ateroskleroze, ir bīstamākā sirds un asinsvadu slimība, jo saistīta ar augstu kardiālas un pēkšņas nāves risku. Piemēram, 1990. gadā KSS bija galvenais nāves cēlonis pasaulē (6,3 mlj nāves gadījumu, salīdzinot ar 4,4 mlj cerebrovaskulāru notikumu un 2,2 mlj elpceļu infekcijas gadījumu, kas attiecīgi bija otrā un trešā vietā) (*Murray & Lopez, 1997*). Tiek prognozēts, ka līdz 2020. gadam, salīdzinot ar 1990. gadu, KSS sastopamība krietni pieaugs visā pasaulē - no 28,9% līdz 36,3% (*Murray & Lopez, 1996*). KSS ir īpaši aktuāla Latvijā, kur kardiovaskulārās mirstības īpatsvars ir viens no augstākajiem Eiropā (*Sans et al., 1997*). Plašās izplatības un smagās gaitas dēļ, KSS ir kļuvusi ne tikai par medicīnisku, bet arī nopietnu sociālekonomisku problēmu, kas aktīvi jārisina gan valsts, gan starptautiskā mērogā.

Praktizējoši kardiologi jau sen ievērojuši, ka KSS slimnieki var ļoti atšķirties gan sākotnējās manifestācijas, gan slimības gaitas ziņā. Sākotnējā klīniskā izpausme var būt *nestabila (akūta)* vai *stabila (pakāpeniska, hroniska)*.

Pie *akūtās* manifestācijas pieder *miokarda infarkts* un *nestabila stenokardija*, kas abi tiek apzīmēti ar relatīvi nesen ieviestu kopīgu jēdzienu – *akūts koronārs sindroms* (AKS). Slimniekiem ar akūtu miokarda infarktu (MI) pastāv augsts komplikāciju risks. Nāves risks pēc pirmā MI viena gada laikā ir 25% vīriešu un 38% sieviešu (*Thom et al., 2006*). Principiālais patoģenēzes mehānisms ir aterosklerotiskās pangas ruptūra un vainagartērijas lumena tromboze, kas izraisa miokarda nekrozi (MI gadījumā) vai transītvu ishēmiju (nestabilas stenokardijas gadījumā). Pie KSS akūtas pirmās manifestācijas klīniskiem variantiem pieder arī *pēkšņa kardiāla nāve*, kuras pamatā ir pēkšņi sirds ritma traucējumi, kas attīstās vainagartēriju akūtas trombozes dēļ, pirms sākusies nekroze (proti, attīstījies MI).

Otra tipiska KSS izpausme ir stabila slodzes stenokardija, kuras gaita un prognoze ir relatīvi labdabīga un kura klīniski izpaužas ar ishēmijas izraisītām sāpēm vai diskomfortu lielākas slodzes gadījumā (kas atbilst I–II funkcionālai klasei pēc Kanādas Kardiovaskulārās biedrības klasifikācijas) (*Campeau, 1976*). Nāves risks šādiem cilvēkiem ir relatīvi zems – ap 2% gadā (*Gibbons et al., 2003*), un arī tas

galvenokārt saistīts ar AKS attīstīšanos. Stabils stenokardijas patoģenēzes pamatā ir pakāpeniska pangs progresēšana, līdz tā stenoze artērijas lūmenu, izraisot ishēmiju gadījumos, kad ir pastiprināta miokarda prasība pēc skābekļa.

Lai gan aprakstīts, ka stenokardija ir biežāka KSS pirmā izpausme (*Dagenais et al.*, 1990), tomēr nav pētīts, cik daudziem no slimniekiem vērojama “klasiski stabila” norise bez AKS izpausmēm ilgstošā periodā. *Tomēr neapšaubāmi ir cilvēki, kam AKS ir agrīna un bieža KSS izpausme (nestabila gaita), kā arī cilvēki, kam KSS vienīgā izpausme ir ilgstoši stabila slodzes stenokardija bez AKS (stabila gaita).* Jāuzsver, ka tieši KSS akūtās izpausmes un nestabila gaita saistīta ar lielu mirstību.

Ir zināmi vairāki galvenie jeb tradicionālie riska faktori, kas veicina aterosklerozi: vecums, dzimums, nelabvēlīga ģimenes anamnēze (agrīns MI vai pēkšņa kardiāla nāve pirmās pakāpes radniekam), dislipidēmija (augsts KH, ZBLH vai TG līmenis, zems ABLH līmenis), smēķēšana, arteriālā hipertensija un cukura diabēts (*De Backer et al.*, 2003; *Yusuf et al.*, 2004). Tomēr to saistība ar KSS konkrētām manifestācijas formām ir vāja (*Dagenais et al.*, 1990; *Fraser et al.*, 1992), tāpēc jānoskaidro citi faktori, kas ietekmē KSS gaitu.

Ja izdotos noskaidrot faktoros, kas KSS gaitu ietekmē labvēlīgi vai nelabvēlīgi, tam būtu vairāki praktiski pielietojumi. Pirmkārt, pavērtos iespēja attīstīt jaunus terapijas virzienus AKS profilaksē un ārstēšanā. Otrkārt, KSS nestabilas gaitas riska faktoros varētu izmantot koronāro notikumu un kardiālas nāves riska aprēķināšanas algoritmos gan primārā, gan sekundārā profilaksē.

Tā kā KSS nestabilas gaitas pamatā ir iekaisuma izraisīta aterosklerotiskās pangs ruptūra un zināms, ka nosliece uz agrīnu KSS var būt ģenētiski pārmantota, var izvirzīt hipotēzi, ka iekaisuma mediatoru ģenētiskās variācijas spēj ietekmēt KSS klīnisko gaitu. Šai darbā analizēta aterosklerotiskā iekaisuma aktivitāti regulējošo interleikīnu (IL) - IL-1 $\beta$ , IL-1 receptora antagonista (IL-1Ra) un IL-6 – ģenētisko variāciju ietekme uz stabila vai nestabila KSS gaitu.

## 2. Literatūras apskats

### 2.1. Aterosklerozes patoģenēze un pangas evolūcija: iekaisuma nozīme AKS attīstībā

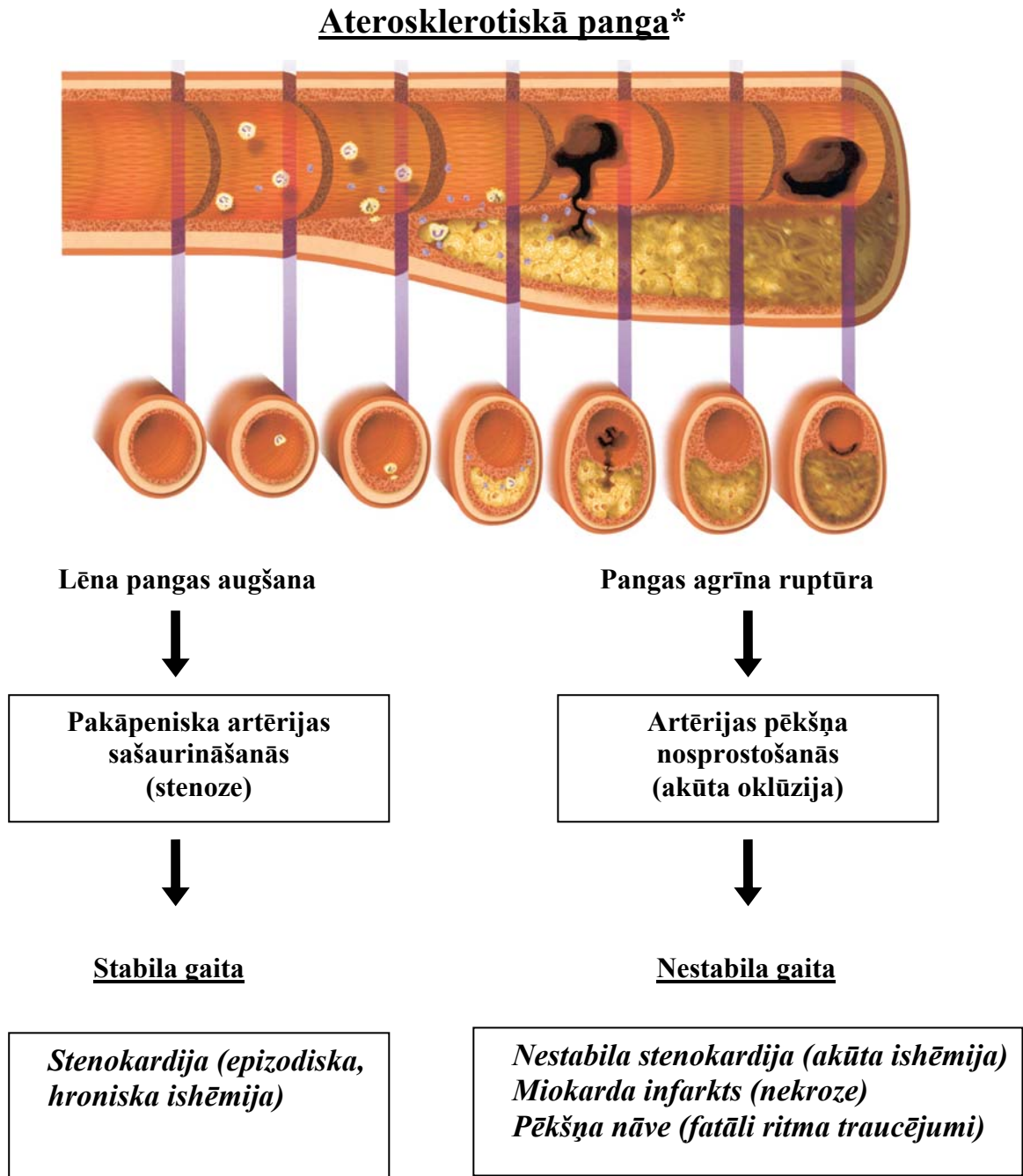
Par aterosklerozes agrīnāko priekštecī tiek uzskatīta endotēlija disfunkcija, kas attīstās zināmu riska faktoru un nepilnīgi izpētītu citu fenotipisku un ģenētisku faktoru summēšanās dēļ. Pēdējo desmit gadu laikā iekaisuma nozīme aterosklerozes patoģenēzē kļuvusi par vienu no galvenajiem aterosklerozes pētniecības virzieniem. Atbilstoši mūsdienu priekšstatiem par aterosklerozes attīstību iekaisumreakcijas elementi vērojami visos tās patoģenēzes posmos (Ross, 1999).

Ja ir traucēta endotēlija funkcija, iespējama ZBL daļiņu penetrācija artēriju subintimālā slānī, kur notiek ZBL oksidācija, kas ierosina aktīvu iekaisumreakciju. No asinīm piesaistītie monocīti pārveidojas par makrofāgiem, kas, fagocitējot modificēto lipīdu daļiņas, bez atgriezeniskā regulācijas mehānisma pārvēršas putu šūnās un iet bojā. Tāpēc subintimālā slānī atbrīvojas ekstracelulārs holesterīns. Vienlaikus no medijas slāņa notiek gludo miocītu migrācija, kuri, proliferējot un sintezējot kolagēnu, veido *fibromuskulāru kapsulu* un aptver *lipīdu kodolu* – divas raksturīgākās aterosklerotiskās pangas sastāvdaļas. Pangu progresēšana var norisēt ar atšķirīgu gaitu, kas var būtiski ietekmēt slimības prognozi (2.1. att.). Pangas pakāpeniskas (stabilas) evolūcijas gadījumā tā palielinās, pakāpeniski stenožējot vainagartēriju līdz pakāpei, kas var izraisīt attiecīgā miokarda apvidus ishēmiju pastiprinātas skābekļa prasības apstākļos, bet neizraisot pangas ruptūru. Klīniskā KSS manifestācija šādiem cilvēkiem ir stabila slodzes stenokardija (vai retāk – miokarda hibernācija ar ishēmisku dilatācijas kardiomiopātiju), kas progresē lēni, un nāves risks ir zems. Alternatīvs pangas attīstīšanās variants ir agrīna fibromuskulārās kapsulas ruptūra, kas komplicējas ar artērijas trombozi un apasiņojamās miokarda zonas akūtu ishēmiju un/vai nekrozi, ko bieži pavada fatāli ritma traucējumi. Parasti pangas ruptūra (destabilizācija) ar sekojošu trombozi klīniski manifestējas ar AKS (nestabila stenokardija vai miokarda infarkts) un/vai pēkšņu kardiālu nāvi (PKN) (Falk et al., 1995; Libby, 2001).

Tāpat dzīvībai bīstama ir ne tik daudz pati vainagartēriju ateroskleroze, cik to tromboze, ko izraisa pangu ruptūra. Tādēļ *būtiski svarīga nozīme ir pangu destabilizācijas mehānismu un galveno cēloņu izprašanai un noskaidrošanai, kas ļautu laikus prognozēt un novērst AKS attīstību personām ar šādu risku.*

Lai gan aprakstīti vairāki faktori, kas varētu veicināt un ierosināt pangu ruptūru (Falk et al., 1995), par vienu no svarīgākajiem pangu kapsulas izdīšanas cēloņiem tiek uzskatīta pastiprināta iekaisuma aktivitāte. Histoloģiskos pētījumos atklāts, ka pangu ruptūras vietai raksturīgs lielāks iekaisumšūnu (makrofāgu) skaits (Moreno et al., 1994). Makrofāgi izdala specifiskus enzīmus – matricas metaloproteināzes, kas šķel kolagēnu un vājina kapsulas biezumu un izturību (Matrisian, 1992). Arī T limfocīti var veicināt šo procesu, izdalot  $\gamma$  interferonu, kas inhibē gludo miocītu proliferāciju un kolagēna sintēzi (Amento et al., 1991). Ļoti būtisks ir novērojums, ka iekaisums AKS gadījumā neaprobežojas tikai ar atsevišķu pangu, bet tā aktivitāte ir pastiprināta visā koronārajā baseinā (Buffon et al., 2002) Tas liecina par sistēmisko, nevis lokālo faktoru būtisku nozīmi. Iekaisuma procesa regulācijā ir iesaistītas daudzas bioloģiski aktīvas vielas ar sarežģītu mijiedarbību un dažādu bioloģisku darbību, pirmkārt citokīni, no kuriem visplašākā grupa ir *interleikīni (IL)*. Atkarā no to iedarbības veida IL var klasificēt par proinflammatoriskiem un antiinflammatoriskiem. Piemēram, par proinflammatoriskiem IL var uzskatīt IL-1, IL-6, IL-18, bet par antiinflammatoriskiem - IL-1 receptoru antagonistu (IL-1Ra), IL-10 (von der Thusen et al., 2003).

2.1. attēls. KSS klīnisko formu patoģenēze.



Koronārās sirds slimības gaitu un prognozi nosaka panga attīstības raksturs. Iekaisuma aktivitāte pangā nosaka panga destabilizāciju un plīšanu, līdz ar to arī augstāku miokarda infarkta un nāves risku.

\* Attēls: Libby, 2001.

## **2.2. KSS pirmā manifestācija un slimības gaita: slimnieku raksturojums**

Salīdzinot slimniekus ar stabilu vai nestabilu KSS manifestāciju, iezīmējas vairākas raksturīgas atšķirības. Galvenās no tām apkopotas 2.1. tabulā.

### Konvencionālie riska faktori

Pārsteidzoši, ka ir ļoti maz pētījumu, kuros būtu pievērsta uzmanība riska faktoru (RF) saistībai ar KSS sākotnējo izpausmi vai slimības gaitu. Tikai dažos pētījumos atzīmēta atšķirīga pirmā KSS manifestācija atkarā no RF profila. Piemēram, Kvebekā (Kanādā) veiktā pētījumā ar 4576 veselīgiem vīriešiem 35 – 64 gadu vecumā 12 gadu laikā biežākā pirmā KSS manifestācija attiecīgi bija stabila stenokardija (6,7/1000 personādu), salīdzinot ar nefatālu MI vai koronāru nāvi (attiecīgi 4,7 un 2,2/1000 personādu) (*Dagenais et al.*, 1990). Arteriālā hipertensija bija saistīta ar visiem pirmās manifestācijas variantiem vienādi, savukārt hiperholesterinēmija vairāk bija saistīta ar stenokardiju vai nefatālu MI. Arī smēķēšana bija asociēta ar specifiskiem KSS notikumiem. Kalifornijā (ASV) analizētā kohortā ar 27 658 vīriešiem un sievietēm sešu gadu laikā tika secināts, ka regulāra fiziskā slodze bija saistīta ar zemāku fatālu notikumu risku, bet neietekmēja MI risku (*Fraser et al.*, 1992). Savukārt adipozitāte vairāk bija saistīta ar MI kā ar fatālu notikumu risku. No pārējiem tradicionāliem riska faktoriem visi korelēja ar notikumu risku, bet tiem nebija būtisku atšķirību attiecībā uz izpausmes veidu (MI vai fatāla KSS). Tomēr šai pētījumā stabila stenokardija kā pirmā izpausme netika analizēta.

Tāpēc jāsecina, ka: 1) konvencionālo riska faktoru ietekme uz KSS sākotnējo klīnisko gaitu ir maz pētīta un 2) esošie pētījumi nenorāda uz šo RF būtisku ietekmi uz KSS sākotnējās manifestācijas veidu. Abi secinājumi aktualizē nepieciešamību identificēt citu faktoros, kas varētu noteikt KSS klīnisko gaitu.

### Vainagartēriju bojājuma raksturojums

Pētījums, kurā tika salīdzināta KSS sākotnējā gaita 55 cilvēkiem ar akūtu (MI kā pirmā manifestācija) un 47 cilvēkiem ar hronisku (stabila stenokardiju divu gadu laikā bez AKS) KSS gaitu, parādīja, ka starp abām klīniskām grupām pastāv būtiskas angiogrāfiskas atšķirības (*Bogaty et al., 1993*). Personām ar pirmreizēju MI (un bez iepriekšējiem koronāriem simptomiem) bija mazāk bojāto vainagartēriju un arī nozīmīgu stenožu vai pat oklūziju nekā personām ar stabilu stenokardiju. Turklāt akūtu slimnieku grupā biežāk bija diskrētā tipa (jeb fokāli) vainagartēriju bojājumi, salīdzinot ar stabilās stenokardijas grupu (54,5% vs. 8,5%), kam bija raksturīgs difūzs artēriju bojājums.

Ļoti svarīgu informāciju, kas apstiprina pangu morfoloģiskās struktūras atšķirības dažādu klīnisko prezentāciju gadījumā, sniedz virkne intravaskulārās ultrasonoskopijas (IVUS) pētījumu. Atklāts, ka personām ar augsta riska nestabīlu stenokardiju vairāk nekā 70% pangu ir mīkstas, savukārt gandrīz 70% personu ar stabīlu stenokardiju pangas pēc struktūras ir jaukti fibrozās vai kalcinētas (*Rasheed et al., 1995*). Vairākos IVUS pētījumos (*Nakamura et al., 2001; Hong et al., 2003; Yang et al., 2003*) konstatēts, ka slimniekiem ar AKS aptuveni divreiz biežāk vērojama vainagartēriju pozitīvā jeb adaptīvā remodelācija (artērijas kompensatoriska paplašināšanās, ekscentrisks bojājums) nekā slimniekiem ar stabīlu stenokardiju. Cits IVUS pētījums uzskatāmi parādīja, ka slimniekiem pēc AMI gan jaunas, gan multiplas pangu ruptūras novēro biežāk nekā personām ar stabīlu stenokardiju (*Hong et al., 2004*), turklāt AMI anamnēze bija vienīgais neatkarīgais pangas ruptūru prognozējošais faktors visā grupā.



**2.1. tabula. Slimnieku ar stabilu un nestabilu KSS gaitu salīdzinājums.\*†**

	<b>Nestabila gaita</b>	<b>Stabila gaita</b>
<b>Klīniskā manifestācija</b>	AMI NS PKN	Stabila stenokardija
<b>Slimības gaita</b>	Agrīni, biežāki un atkārtoti AKS	Ilgstoši stenokardija bez AKS
<b>Patoģenēze</b>	Pangas agrīna/atkārtota ruptūra, vai multiplas pangu ruptūras	Pakāpeniska pangas augšana (bez destabilizācijas) līdz sasniedz kritiskus apmērus
<b>Raksturīgākās angiogrāfiskās pazīmes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vienas artērijas slimība</li> <li>• Viens vai daži bojājumi</li> <li>• Lokālas (diskrētas) stenozes</li> <li>• Oklūzija attīstās uz relatīvi zemas pakāpes stenozes fona (70% MI attīstās uz &lt;50% stenozes fona)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vairāku artēriju slimība</li> <li>• Vairākas stenozes vai hroniskas oklūzijas</li> <li>• Difūza slimība</li> <li>• Augstas pakāpes stenozes (&gt;75%, bieži &gt;90%)</li> </ul>
<b>IVUS</b>	Raksturīgāka pozitīva remodelācija	Raksturīgāka negatīva remodelācija
<b>Pangas ruptūra nākotnē</b>	Multiplas ruptūras biežas (20%)	Multiplas ruptūras retas (6%)
<b>Tradicionālo RF atšķirības</b>		Nav pārliecinošu atšķirību
<b>Pangas ruptūru prognozējošie faktori (IVUS dati)</b>	CRP	Cukura diabēts
<b>Iekaisuma faktori</b>	CRP ↑ FG ↑	-
<b>Prognoze</b>	Nelabvēlīga Mortalitāte: 25-38% viena gada laikā	Relatīvi labvēlīga Mortalitāte: ~2% gadā

\* Abu slimnieku grupu atšķirības norāda tikai uz tendencēm.

† Atsauces uz avotiem skatīt tekstā.

### 2.3. Iekaisuma marķieri un KSS risks

Ņemot vērā iekaisuma nozīmi aterosklerozes attīstībā un paaugstinātā kardiovaskulārā riska marķieru nozīmi. Par perspektīvāko no klīniski izmantojamiem iekaisuma raksturlielumiem (sk. 2.2. tabulu) kļuvis C reaktīvais proteīns (CRP), jo tam ir augsta jutība un labi standartizētas augstas sensitivitātes noteikšanas metodes (*high sensitivity CRP*, hs-CRP) (Pearson et al., 2003; Biassuci, 2004). Atbilstoši divu respektablu ASV institūciju - Amerikas Sirds saistības (AHA) un Slimību kontroles centra (CDC) - ieteikumam no KVS profilakses viedokļa uz paaugstinātu risku norāda CRP >3 mg/l, bet uz pazeminātu risku – CRP <1 mg/l (Pearson et al., 2003). Vairākos pētījumos konstatēta pārliecinoša CRP korelācija ar paaugstinātu KVS risku gan personām bez manifestētas KVS, gan personām ar KSS, un tā ir neatkarīga no KH/ABLH attiecības (Ridker, 2001; Pearson et al., 2003). C reaktīvā proteīna neatkarīgo nozīmi apstiprināja arī REVERSAL pētījuma dati – ar intravaskulāro ultrasonoskopiju (IVUS) monitorētās vainagartēriju ateromas progresēšana korelēja ar CRP līmeni neatkarīgi no lipīdu pārmaiņām (Nissen et al., 2005). Vēl vairāk, ir atklāts, ka personām ar paaugstinātu CRP un normālu ZBLH līmeni KSS risks varētu būt tikpat augsts kā personām ar normālu CRP un paaugstinātu ZBLH līmeni (Ridker et al., 2001). Ļoti būtiska atrade tika iegūta nesen publicētā PROVE-IT pētījuma analīzē, kas pierāda, ka slimniekiem, kam pēc AKS statīnu terapijas fonā CRP līmenis pārsniedz 2 mg/l, raksturīgs augstāks atkārtotu notikumu risks nekā personām ar CRP <2 mg/l. (Ridker et al., 2005).

Lai gan no dažu pētījumu datiem izriet, ka, salīdzinot ar lipīdiem, smēķēšanu un hipertensiju, CRP kā primāro notikumu prognostiska marķiera spēks ir mērens (Danesh et al., 2004), tomēr neapšaubāmi pastāv korelācija starp iekaisuma aktivitāti un koronāro notikumu risku. Vēl precīzāka sakarība atrasta ar citiem iekaisuma marķieriem, piemēram, vairākām adhēzijas molekulām un IL, tomēr to praktisko lietojumu būtiski ierobežo sarežģītās un dārgās noteikšanas metodes (Pearson et al., 2003).

## 2.2. tabula. Iekaisuma raksturlielumi, kas varētu tikt izmantoti par potenciāliem kardiovaskulārā riska marķieriem.\*

---

Adhēzijas molekulas
Citokīni
Akūtās fāzes reaktanti
Fibrinogēns
Seruma amiloīds A
C reaktīvais proteīns
Leikocītu skaits
Citi (piemēram, eritrocītu grimšanas ātrums)

---

\* Modificēts pēc *Pearson et al., 2003.*

### 2.4. Iekaisuma marķieri un KSS gaita

Lai gan lielajos prospektīvajos pētījumos ar personām bez KVS nav analizēta CRP vai citu iekaisuma marķieru saistība ar KSS sākotnējās manifestācijas veidu, pētījumos ar koronāriem slimniekiem, kas pārcietuši AKS, piemēram, PROVE-IT pētījumā, paaugstināts CRP līmenis pārliecinoši prognozēja atkārtota AKS risku (*Ridker et al., 2005*). Tomēr vairāki nelieli, pārsvarā retrospektīvi pētījumi norāda uz paaugstinātas iekaisuma aktivitātes saistību ar biežāku KSS nestabilu izpausmi. Piemēram, salīdzinot 160 cilvēkus, kas bija pārcietuši MI, ar 226 stabilas stenokardijas slimniekiem bez AKS (*Sposito et al., 2003*), MI grupā bija vairāk leikocītu (8%, MV analizē nebija nozīmīgs faktors), augstāks fibrinogēna (20%), lipoproteīna(a) (46%) un zemāks ABL-H (12%) līmenis, no kuriem tikai pēdējais tiek uzskatīts par tradicionālu RF. Zīmīgi, ka paaugstināts fibrinogēna līmenis ir viens no iekaisuma marķieriem (*Pearson et al., 2003*), bet ABLH savukārt piedalās iekaisuma aktivitātes regulācijā ar ambivalentu ietekmi (*Navab et al., 2005*).

Uz iekaisumu kā vienu no iespējamiem KSS gaitu ietekmējošiem faktoriem norāda arī cits pētījums, kurā tika salīdzinātas trīs atšķirīgas klīniskās grupas (n=50 katrā): (i) personas ar vairākiem AKS, (ii) stabilu stenokardiju bez AKS ( $\geq 3$  gadi) un (iii) kontrolgrupa ar normālu koronāro angiogrammu (*Bogaty et al., 2001*). Homocisteīna, lipoproteīna (a), audu plazminogēna aktivatora (tPA) un tPA inhibitora līmenis abās KSS grupās bija vienāds, bet augstāks nekā kontrolgrupā. Savukārt personām ar multiplu AKS anamnēzi CRP, FG un Villebranda faktora līmenis bija augstāks nekā stabilas stenokardijas grupā. Četrus gadus laikā AKS daudz biežāk attīstījās multiplo notikumu grupā nekā stabilo slimnieku grupā (42% vs. 4%), un tikai CRP būtiski atšķīrās starp personām ar vai bez akūtā notikuma novērojuma laikā

(attiecīgi vidējais CRP 4,9 mg/l un 1,8 mg/l). Turklāt CRP >3,5 mg/l palielināja akūta notikuma risku četru gadu laikā vairāk nekā septiņkārt. Arī jau iepriekš minētā IVUS pētījumā AMI grupā pangas ruptūras prognozēja tikai paaugstināts CRP līmenis, savukārt stabilas stenokardijas grupā - tikai CD (*Hong et al.*, 2004).

### **2.5. Citokīni. Interleikīnu raksturojums.**

Par citokīniem tradicionāli uzskata (gliko)proteīnus, kas veic signālu pārnesei starp šūnām. Šķir 6 citokīnu pamatveidus: interleikīni (IL), audzēju nekrozes faktori, interferoni, kolonijas stimulējoši faktori, augšanas faktori un hemokīni (*Henderson & Higgs*, 2000). Jāatzīmē gan, ka šīs grupas pārklājas. Par IL uzskata citokīnus, ko galvenokārt producē leikocīti un kas pārsvarā iedarbojas uz leikocītiem (*von der Thusen et al.*, 2003). Tomēr arī endotēlijšūnas un asinsvadu gludie miocīti producē vairākus IL, tāpēc šo citokīnu nozīme aterosklerozes patoģenēzē neaprobežojas tikai ar makrofāgiem un T limfocītiem (*von der Thusen et al.*, 2003). Vairāk nekā 30 zināmos IL var iedalīt grupās atbilstoši to aminoskābju secībai vai tiecamreceptoru homologijai, kā arī pēc to pro- vai antiateroģeniskās iedarbības (sk. 2.3. tabulu) (*von der Thusen et al.*, 2003).

IL ir svarīgākā imūn- un iekaisumreakciju mediatoru grupa, kam zināmas vairāk nekā desmit formas, no kurām galvenā ir IL-1. IL-1 ir primārais citokīns, kas tiek producēts iekaisumreakcijas sākumfāzē un izraisa citu (sekundāro) IL, piemēram, IL-6, un bioloģiski aktīvu vielu izdalīšanos. Šobrīd izolēti un klonēti trīs galvenie IL-1 grupas IL, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  un IL-1Ra (IL-1 receptora antagonists). IL-1 $\alpha$  un IL-1  $\beta$  kopā tiek apzīmēti par IL-1, un abiem tiem piemīt proinflammatoriskas īpašības. Savukārt IL-1RA ir abu šo citokīnu antagonists, proti, tā bioloģiskā iedarbība ir antiinflammatoriska. Vairākos pētījumos ir pierādīts, ka tieši IL-1  $\beta$  un IL-1RA koncentrācijas attiecība nosaka galīgo iekaisumreakcijas intensitāti.

**2.3. tabula. Interleikīnu iedalījums pēc to struktūras/receptoru līdzībām un bioloģiskās iedarbības aterosklerozes patoģenēzē\***

	<b>Proaterogēniskiska</b>	<b>Neskaidra</b>	<b>Antiaterogēniskiska</b>	<b>Nezināma</b>
IL-1 grupa	<b>IL-1<math>\alpha</math>/<math>\beta</math><sup>†</sup></b> <b>IL-18</b>		<b>IL-1Ra</b>	
IL-2 grupa	IL-2	IL-4	<b>IL-9</b>	IL-7
	IL-15	IL-13		IL-21
Kolonijas stimulējošo faktoru grupa	IL-3			IL-5
Gp130 grupa	<b>IL-6</b> <b>IL-12</b>		IL-11	IL-23 IL-27
Hemokīni IL-10 grupa	<b>IL-8</b>		<b>IL-10</b>	IL-16 IL-19 IL-20 IL-22 IL-24 IL-26
IL-17 grupa Neklasificēti	IL-17A/B/C/E/F			IL-25 IL-14

\* **Modificēts pēc von der Thusen et al., 2003.**

† **Ar trekniem burtiem atzīmēti IL ar zināmu cēlonisku (nevis asociatīvu) nozīmi.**

**2.5.1. Interleikīna-1 grupa**

Pie IL-1 grupas pieder trīs proinflammatoriski IL - IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18 - un IL-1 receptoru antagonists (IL-1Ra), kam piemīt pretiekaisuma un antiaterogēniska iedarbība (*von der Thusen et al., 2003*). IL-1 ir viens no visspēcīgākajiem iekaisumreakciju ierosinošiem faktoriem organismā. Piemēram, intravenozi ievadīts IL-1 $\beta$  pat nelielā koncentrācijā (1 ng/kg) spēj izraisīt iekaisumreakcijai raksturīgos simptomus (*von der Thusen et al., 2003*). Tā kā IL-1 ierosina veselu virkni citu proinflammatorisko faktoru aktivizēšanas kaskāžu, tā bioloģiskā darbība strauji amplificējas pat no nelielas IL-1 koncentrācijas (*Suzuki et al., 1989*). IL-1 $\alpha$  tiek sintezēts jau aktīvā formā un darbojas tikai parakrīni, šūnu tuvumā, savukārt IL-1 $\beta$  tiek sekretēts neaktīvs, un tā aktivāciju nodrošina IL konvertējošais enzīms (*Dinarello, 2002*).

IL-1 $\beta$  ir kritiska nozīme akūtās fāzes atbildē un drudža attīstībā lokāla audu bojājuma gadījumā, bet sistēmiska iekaisuma gadījumā tas tikai piedalās iekaisumreakcijas ķēdes nodrošināšanā. Iekaisumatbildē IL-1 modulē ekstravazāciju un leukocītu lokalizāciju iekaisuma vietā, kas ietver leukocītu adhēziju un pārnesi caur endotēlija slāni. Tas aktivē neitrofilos leukocītus un makrofāģus, kā arī ietekmē

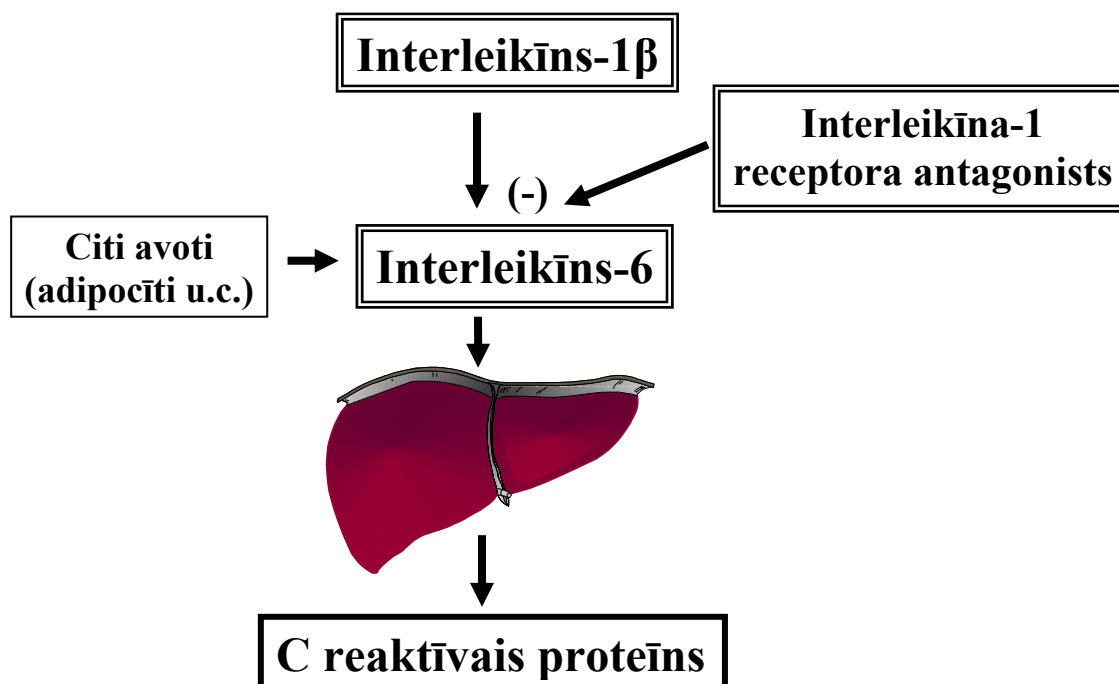
endotēlijšūnas, kam seko asinsvada dilatācija. IL-1 ierosina akūtās fāzes reaktīvo vielu, citu citokīnu, adhēzijas molekulu, prostanoīdu un brīvos radikāļus veidojošo enzīmu producēšanu, kā arī pastiprina fibroblastu, gludo muskuļšūnu un mezangiālo šūnu proliferāciju (*Fantuzzi & Dinarello, 1996; Kozak et al., 1998*).

#### *Interleikīna-1 receptori un interleikīna-1 receptoru antagonists*

IL-1 $\alpha$  un  $\beta$  visi bioloģiskie proinflammatoriskie efekti tiek īstenoti ar IL-1 pirmā tipa receptoru (IL-1RI) (*von der Thusen et al., 2003*). Saistīšanās pie otrā tipa receptoriem (IL-1RII) neizraisa analogiskas sekas, tādēļ IL-1RII var uzskatīt par vienu no dabiskiem IL-1 aktivitāti ierobežojošiem mehānismiem, jo tas darbojas pēc neitralizējoša “slazda” principa (*Colotta et al., 1993*). Otrs dabiskais pret IL-1 aktivitāti vērtais mehānisms ir IL-1 receptora antagonists (IL-1Ra), kam piemīt afinitāte pret IL-1 receptoriem. Bloķējot IL-1 $\alpha$  un - $\beta$  saistību ar šiem receptoriem, tiek novērsta arī to bioloģiskā proinflammatoriskā darbība (*Lennard, 1995*). Fizioloģiska IL-1 inhibīcija ar IL-1Ra aizsargā organismu no pārliekas iekaisumreakcijas (*Hirsch et al., 1996*). IL-1Ra saistās ar tiem pašiem receptoriem kā IL-1, taču binārais komplekss, kas rodas, IL-1Ra pievienojoties IL pirmā tipa receptoram (IL-1RI jeb p80), nespēj saistīties ar IL-1R papildinošo proteīnu, tādēļ nav signāla transdukcijas. Tādējādi IL-1Ra darbojas par negatīvo regulatoru iekaisumreakcijas ķēdē (*Granowitz et al., 1992*).

IL-1 grupai ir pievērsta liela uzmanība aterosģenģzes izpētģ, jo IL-1 pieder pie visagrģnģk aktivģtiem iekaisumreakciju mediatoriem un tam piemģt iedarbģba uz vairģkģm šģnu grupģm (makrofģgiem, endotģlijģšģnģm, miocģtiem un T limfocģtiem). Turklģt IL-1 sekmģ IL-6 producģšanu, kas savukģrt ir centrģlais CRP sintģzes ierosinģtģjs (sk. 2.2. attģlu). Jģuzsver, ka IL-1 $\alpha$  un - $\beta$  bioloģiskģ aktivitģte atkarģga ne tikai no pašu IL producģšanas intensitģtes, bet arī no attiecģbas starp IL-1 un tģ darbģbu antagonizģjoģiem mehģnismiem (IL-1Ra un IL-1RII) (*Lennard, 1995*).

## 2.2. attēls. C reaktīvā proteīna sintēzes galvenie regulējošie mehānismi\*



\* Modificēts pēc *Libby & Ridker, 1999*.

### 2.5.2. Interleikīns-6

IL-6 (jeb interferons- $\beta$ 2) ir daudzfunkcionāls citokīns, kas iesaistīts imūnajā atbildē, iekaisumā, hematopoēzē, kā arī endokrīnās un nervu sistēmas funkcijās (*Kishimoto, 1989; van Snick, 1990; Akira et al., 1993*). IL-6 ir viens no galvenajiem akūtās fāzes mediatoriem (*Fattori et al., 1994; Kopf et al., 1994; Kopf et al., 1995*), kā arī atbild par sekmīgu B šūnu attīstību pēdējās stadijās, it īpaši B šūnu diferenciāciju plazmas šūnās, un par pastiprinātu IgM, IgG, IgA producēšanu (*Cox & Gauldie, 1997*). IL-6 producē vairāki šūnu veidi, to vidū monocīti/makrofāgi (*May et al., 1988*), fibroblasti (*Mantovani et al., 1998*), endotēlijšūnas (*Podor et al., 1989*), adipocīti (*de Benedetti et al., 1991*), T šūnas (*Hirano et al., 1985*) un cilmsūnas (*Plaut et al., 1989*).

IL-6 netiek sintezēts būtiskā apmērā nepārtraukti, bet tā producēšana lielākoties ir ierosināma. IL-6 induktori ir IL-1, trombocītu atvasinātais augšanas faktors (PDGF), audzēja nekrozes faktors alfa (TNF- $\alpha$ ), baktēriju endotoksīni un vīrusi. Vairāki šūnu veidi (monocīti/makrofāgi, fibroblasti, endotēlijšūnas, adipocīti, T un cilmsūnas) sintezē IL-6, atbildot uz kairinājumu (*Fey & Gauldie, 1990*). Cirkulējošā IL-6 līmenis

lielākoties tiek regulēts transkripcijas posmā, jo šis citokīns tiek ātri eliminēts no plazmas (*Castell et al.*, 1988).

## **2.6. Interleikīnu līmeņa saistība ar KSS un tās dažādām formām**

Nemot vērā pieaugošo informāciju par iekaisuma nozīmi AKS patoģenēzē, vairāki zinātnieki pētījuši citokīnu līmeni personām ar AKS. Iegūti pierādījumi, ka IL līmenis plazmā personām ar AKS ir paaugstināts un korelē ar sliktāku slimības gaitu un prognozi. Biasuči ar līdzautoriem (*Biassuci et al.*, 1996) vieni no pirmajiem ievēroja paaugstinātu IL-6 līmeni personām ar nestabilu stenokardiju, salīdzinot ar stabilas stenokardijas slimniekiem. To apstiprināja arī citu pētnieku novērojumi (*Yazdani et al.*, 1998), kuros tika atklāts arī augstāks IL-1 $\beta$ , bet ne TNF- $\alpha$  līmenis (*Simon et al.*, 2000). Paaugstināts IL līmenis ir saistīts arī ar koronāro notikumu biežumu un AKS nelabvēlīgu prognozi. Piemēram, novērots, ka slimniekiem ar smagāku nestabilās stenokardijas gaitu IL-1Ra un IL-6 līmenis ir augstāks nekā personām bez koronārām komplikācijām, turklāt hospitalizācijas laikā abu IL līmenis pirmā slimnieku grupā turpināja pieaugt (*Biasucci et al.*, 1999). Personām ar angiogrāfiski apstiprinātu nestabilo stenokardiju novērots krietni augstāks IL-1Ra līmenis serumā, salīdzinot ar stabilas stenokardijas grupu, un tas bija jutīgāks raksturlielums par CRP līmeni (*Patti et al.*, 2002a; *Patti et al.*, 2002b).

Paaugstināts IL-6 līmenis ne tikai korelē ar palielinātu risku personām ar AKS, bet arī identificē tos, kam gaidāms lielākais ārstnieciskais efekts no agrīnas invazīvas iejaukšanās (*Lindmark et al.*, 2001). Tomēr paaugstināts IL līmenis var norādīt arī uz biežākiem koronāriem notikumiem pat pēc invazīvas ārstēšanas. Piemēram, Pati u. c. novēroja IL-1Ra līmeņa (pēc PTCA) paaugstināšanās saistību ar atkārtotas koronāras lēkmes risku (*Patti et al.*, 2002a).

Jāuzsver, ka IL-1 $\beta$  noteikšana serumā ir tehniski sarežģīta, jo IL-1 $\beta$  koncentrācija pat patoloģiskas paaugstināšanās gadījumā ir samērā maza un joprojām grūti nosakāma. Tādēļ pētniecībā plašāk tiek noteikts IL-1Ra, kura līmenis ir vieglāk mērāms un tiek uzskatīts par proporcionāli atkarīgu no IL-1 $\beta$  līmeņa, tādējādi atspoguļojot IL-1 $\beta$  pārmaiņas plazmā. Tas izskaidro relatīvi skopo informāciju par IL-1 $\beta$  līmeņa saistību ar KSS un AKS un krietni vairāk pētījumu ar IL-1Ra. Tomēr no patoģenētiskā viedokļa IL-1 $\beta$ , būdams galvenais iekaisumreakciju mediators, ir



svarīgāks pētījuma objekts. Turklāt IL-1Ra līmenis var arī neatspoguļot precīzi patieso IL-1 $\beta$  līmeni.

*Pētījumi liecina par IL nozīmi AKS patoģenēzē: IL-1 $\beta$  un IL-6 līmenis ir proporcionāli saistīts ar paaugstinātu AKS risku un tā iznākumu, savukārt IL-1Ra līmenis atkarīgs no IL-1 $\beta$  līmeņa, lai gan IL-1Ra piemīt pretiekaisuma darbība. Izteikta hipotēze, ka pangas stabilitāti lielā mērā nosaka IL-1 un IL-1Ra līmeņu attiecība un abu citokīnu līdzsvars varētu noteikt galīgo iekaisuma aktivitāti pangā (Dinarello, 2005).*

Šo IL nozīmi ateroģenēzē apliecina arī novērojumi, ka cilvēka artēriju aterosklerotiskās pangās atrasta palielināta IL-6 un IL-1Ra mRNS koncentrācija, kas apstiprina pastiprinātu IL gēnu ekspresiju pašās pangās (Seino et al., 1994; Dewberry et al., 2000), lai gan pastiprinātās iekaisuma aktivitātes palaidējmehānismi var būt arī ekstravaskulāri.

Neatkarīgi no iekaisuma primārā avota *IL sintēzes intensitāte atkarīga no gēnu spējas producēt attiecīgos IL, kas savukārt var mainīties ģenētisko variāciju ietekmē. Tā kā pastāv pierādījumi par IL saistību ar AKS risku, var gaidīt, ka IL ģenētiskās variācijas saistītas ar AKS attīstības risku un attiecīgi arī KSS klīnisko gaitu.*

## **2.7. Interleikīna-1 $\beta$ , interleikīna-1Ra un interleikīna-6 gēnu un biežāko polimorfismu raksturojums**

### **2.7.1. Interleikīna-1 $\beta$ gēns un polimorfismi**

IL-1 $\beta$  gēns (IL-1B) atrodas otrās hromosomas IL-1 gēnu klasterī (+70 līdz +110 kb intervāls), ir 7,02 kb liels un satur septiņus eksonus (Nicklin et al., 1994). Divi no biežākajiem IL-1B gēna polimorfismiem ir SNP -511 (C/T) un +3954 (C/T) pozīcijā. IL-1 (-511) C/T polimorfismu pirmo reizi aprakstīja di Džovine u.c. 1992. gadā (di Giovine et al., 1992), bet IL-1 (+3954) C/T polimorfismu - Pocio u.c. arī 1992. gadā (Pociot et al., 1992). Pētījumos konstatēts, ka abiem polimorfismiem piemīt saistība ar IL-1 $\beta$  producēšanas aktivitāti (El-Omar et al., 2000). Tā kā neviena no šīm variācijām nav funkcionāla, proti, nemaina IL-1 $\beta$  aminoskābju secību (+3954) un neietekmē arī kādu regulatoru secību (-511), šie efekti, visticamāk, atspoguļo nelīdzsvarotu saistību (LD) ar citiem funkcionāliem polimorfismiem. Piemēram, noskaidrots, ka -511 polimorfisms ir gandrīz pilnīgā LD ar IL-1B gēna TATA secības variāciju, kas ietekmē IL-1 $\beta$  ekspresiju (El-Omar et al., 2000).

### 2.7.2. Interleikīna-1Ra gēns un polimorfismi

IL-1Ra gēns (IL-1RN) ir 16,02 kb liels, satur piecus eksonus un atrodas otrās hromosomas garajā plecā (*Steinkasserer et al.*, 1992). Tas atbild par šobrīd zināmu trīs IL-1Ra izoformu sintēzi: glikozilētā šķīstošā (sIL-1Ra) un divas intracelulārās neglikozilētās formas (icIL-1Ra I un icIL-1Ra II). Visas šīs formas tiek ģenerētas no viena gēna alternatīvā splaisinga rezultātā un satur atšķirīgus pirmos eksonus (*Butcher et al.*, 1994). sIL-1Ra var tikt producēts vairumā šūnu, kamēr icIL-1Ra būtiski tiek ekspresēts tikai keratinocītos un zarnu epitēlijšūnās (*Dinarelo et al.*, 1996).

No literatūrā aprakstītiem polimorfismiem nozīmīga saistība ar gēna ekspresiju atrasta mainīga skaita tandēmu atkārtojumu (VNTR – *variable number tandem repeats*) polimorfismam otrajā intronā, kas raksturojas ar 86 bp atkārtojumiem un pirmo reizi ticis aprakstīts 1993. gadā (*Tarlow et al.*, 1993). Šobrīd zināmas piecas alēles ar 2, 3, 4, 5 un 6 atkārtojumiem, kas tiek apzīmētas ar kārtas numuriem atbilstoši to biežumam (sk. 2.4. tabulu). Lai gan alēļu sastopamība variē, visās līdz šim aprakstītās populācijās pirmā alēle (\*1), kas satur četrus atkārtojumus, ir biežākā un alēle, kas satur divus atkārtojumus – otra izplatītākā. Pārējie varianti sastopami reti (<1% gadījumu) (*Witkin et al.*, 2002).

**2.4. tabula. IL-1RN (VNTR) alēļu raksturojums\***

Alēle	86 bp fragmenta atkārtojumi
*1	4
*2	2
*3	3
*4	5
*5	6

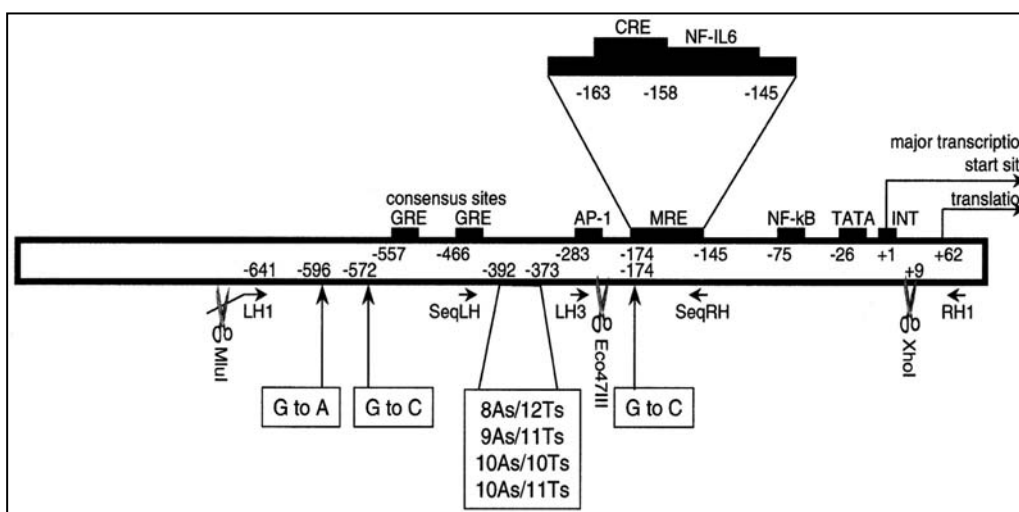
\* Pēc *Tarlow et al.*, 1993.

### 2.7.3. IL-6 gēns, promotora polimorfismi un haplotipi

IL-6 gēns lokalizēts septītās hromosomas īsajā plecā (7p21-p15) (*Chen et al.*, 1987; *Ferguson-Smith et al.*, 1988), un tajā atklāti vairāki IL-6 sintēzi ietekmējoši polimorfismi, no kuriem biežāk izplatītie lokalizēti promotora apvidū: viena nukleotīda polimorfismi (SNP) (-174) G/C (*Olomolaiye et al.*, 1997), (-572) G/C un IL-6 (-596) G/A (*Fishman et al.*, 1998), kā arī viena mainīga skaita A un T nukleotīdu rinda (AnTn) -373 pozīcijā (*Fishman et al.*, 1998).

Literatūrā pirmreiz pilnus IL-6 promotora apvidus haplotipus detalizēti aprakstīja Terija u.c. 2000. gadā (*Terry et al.*, 2000), kas bija analizējuši 39 veselām personām IL-6 promotora četrus polimorfismus: -596 G/A, -572 G/C, -373 AnTn un -174 G/C (sk. 2.3. attēlu) un atrada, ka šīs variācijas ir savstarpēji cieši saistītas, veidojot piecus biežāk izplatītos haplotipus (sk. 2.5. tabulu). Tikai trijos no 78 gadījumiem tika atrasti citi polimorfismu kombināciju varianti (retie haplotipi).

### 2.3. attēls. Četri haplotipus veidojošie polimorfismi IL-6 promotora rajonā.\*



\* Pēc *Terry et al.*, 2000.

## 2.5. tabula. IL-6 haplotipu raksturojums\*

Haplotips				n	Biežums
-596 G/A	-572 G/C	-373 AnTn	-174 G/C		
A	G	8/12	C	28	0,36
G	G	9/11	G	14	0,18
G	G	10/11	G	19	0,24
G	G	10/10	G	9	0,12
G	C	10/10	G	5	0,06
A	G	8/12	G	1	0,01
G	G <sup>†</sup>	10/11	G	1	0,01
G	G	9/11	C	1	0,01

\* Pēc Terry et al., 2000.

† Delēcija blakus AnTn.

## 2.8. Interleikīnu ģenētisko variāciju funkcionālās nozīmes datu interpretācija

Pirms tiek aplūkoti literatūras dati par IL polimorfismu saistību ar KSS gaitu, nepieciešams atzīmēt vairākus būtiskus šās informācijas interpretācijas aspektus.

Par ģenētiskā polimorfisma funkcionālo nozīmi var spriest pēc vairākiem kritērijiem, to vidū gēna transkripcijas aktivitātes un attiecīga IL līmeņa. Tomēr abos gadījumos ir zināmi ierobežojumi, kas apgrūtina ģenētisko polimorfismu bioloģiskās nozīmes interpretāciju. Gēna transkripcijas efektivitāte atkarīga no transkripcijas induktoru klātnes, kuri var būt vairāki, un ne vienmēr ir skaidrs, kurš bioloģiskais stimuls ir būtiskākais vispār vai noteiktas slimības patoģenēzē. Tātad eksperimentālā modelī atrasto sakarību nozīmīgums var neatbilst dabā notiekošiem procesiem. Turklāt būtu vēlams ņemt vērā un precizēt bazālās un ierosināmās transkripcijas aktivitātes īpatsvaru patoģenēzē, proti, noskaidrot, cik liela (un vai vispār) nozīme ir bazālās transkripcijas aktivitātei (kas nav atkarīga no jebkāda veida ierosinošiem faktoriem, lai gan iespējami arī stabili, „bazālie induktori”, un cik liela – ierosināmai transkripcijai (ko nosaka gēna transkripcijas regulatori, kuru sintēzi/aktivāciju savukārt ietekmē citi pro/antinfiammatoriski mediatori) (Humphries et al., 2001). Ģenētiskajos pētījumos bieži novērota polimorfismu atšķirīgā ietekme uz gēna bazālo un ierosināmo ekspresiju. Piemēram, IL-6 (-174) C alēles gadījumā bazālā ekspresija ir mazināta, savukārt ierosināmā – nav mainīta, turklāt šo efektu var ietekmēt personas vecums (Fishman et al. 1998; Olivieri et al., 2002).

Tā kā IL sistēma normāli ir mazaktīva un tās aktivācijas gadījumā, piemēram, IL-1 $\beta$  līmenis plazmā var pieaugt pat vairāk nekā desmitkārt, var pieņemt, ka AKS patogēnēzē lielāka nozīme varētu būt tiem polimorfismiem, kas veicina straujāku un/vai stiprāku gēnu indukciju. Piemēram, personām, kam tiek veikta CABG, IL-6 līmenis paaugstinās 17 reizi, sasniedzot maksimumu pēc 24 stundām (*Burzotta et al.*, 2001). *Ex vivo* apstākļos šī koncentrācija LPS stimulācijas dēļ var pieaugt pat vairāk nekā 27 reizes (*Rivera-Chavez et al.*, 2003).

Polimorfismu ietekmes uz gēna ekspresiju vērtēšanu aprūstina arī fakts, ka tā var būt šūnspecifiska, proti, atšķirties dažādiem šūnu veidiem, kā tas pierādīts, piemēram, IL-6 ekspresijas analīzēs HeLa un ECV304 šūnu līnijās (*Terry et al.*, 2000). Lai gan teorētiski varētu pieņemt, ka konkrētajā piemērā no aterosklerozes pētniecības viedokļa svarīgākas ir endotēlijšūnām līdzīgās ECV304 šūnas, nevis ar epitēlija īpašībām apveltītās HeLa šūnas, tomēr *in vitro* pētījumi var neatspoguļot patiesos bioloģiskos notikumus. Par to liecina arī novērojums, ka nav korelācijas starp *in vitro* polimorfisko nukleāro šūnu producēto un *in vivo* (asinīs cirkulējošā) IL-6 līmeni (*Olivieri et al.*, 2002). Vēl vairāk, atšķirības starp polimorfismiem var parādīties ne tikai bazālās un/vai ierosinātās ekspresijas, bet arī supresijas mehānismu efektivitātes ziņā (*Terry et al.*, 2000).

Alēļu funkcionālās ietekmes nozīmes interpretāciju var sarežģīt arī pleiotropiskais efekts - viena gēna ietekme uz vairāku, atšķirīgas un pat pretējas nozīmes vielām. Piemēram, novērots, ka IL-1RN (VNTR)\*2 paaugstina gan aktīvā proinflammatoriskā citokīna IL-1 $\beta$ , gan tā dabiskā antagonista IL-1Ra līmeni (*Santtila et al.*, 1998; *Hurme & Santtila*, 1998). Tāpēc par attiecīgās alēles summējošo ietekmi uz iekaisuma aktivitāti nevar spriest tikai pēc atsevišķi analizētu abu citokīnu producēšanas, jo jāņem vērā abu vielu koncentrācijas attiecība, kas nosaka summāro proinflammatoriskā signāla transdukciju caur IL-1 receptoriem (*Lennard*, 1995).

Atšķirības starp alēlēm var izpausties arī ierosinātās ekspresijas noturības ziņā. Tā, piemēram, izteikta hipotēze, ka IL-6 promotora IL-6 (-174) G/C polimorfisma C alēle varētu noteikt kā mazāku ierosinātās ekspresijas maksimumu, tā arī lēnāku atgriešanos pie bazālās transkripcijas līmeņa (*Humphries et al.*, 2001).

*Nepārprotami interpretēt pētījumu rezultātus, kuros analizēta ģenētisko variāciju ietekme uz gēnu ekspresiju, neļauj daži šo pētījumu trūkumi, proti, tajos netiek ņemti vērā vairāki būtiski faktori, piemēram:*

1. Polimorfismu atšķirīgā ietekme uz bazālo un ierosināmo transkripciju, kā arī induktoru un/vai represoru bioloģiskajiem efektiem.
2. Eksperimentālo induktoru un/vai represoru iespējamā neatbilstība slimības patoģenēzē nozīmīgiem modulatoriem.
3. Polimorfismu atšķirīgā funkcionālā nozīme dažādos šūnu veidos – tāpēc arī *in vitro* pētījumos izmantoto šūnu līniju kā modeļu iespējamā neatbilstība realitātei.
4. Mijiedarbība ar citiem faktoriem, piemēram, vecumu, dzimumu, vides riska faktoriem u.c.

Diemžēl pašreizējā informācija neļauj atbildēt uz jautājumu, kuras transkripcijas aktivitātes pārmaiņas ir visbūtiskākās KSS patoģenēzē, un atstāj minētos apsvērumus hipotētisku pieņēmumu līmenī. *Viena no šā darba hipotēzēm ir pieņēmums, ka polimorfismu atšķirīgā ietekme uz bazālo un ierosināmo gēna ekspresiju var ietekmēt ne tikai KSS attīstīšanās risku, bet, iespējams, arī KSS izpausmes formas un slimības gaitu.* Piemēram, iespējams, ka polimorfisms, kas palielina bazālo IL sekrēciju, saistīts ar KSS kā tādas attīstības risku vai arī stabilas stenokardijas attīstības, bet ne ar AKS. Pieņemot šo hipotēzi, varētu gaidīt, ka polimorfismi, kas potencē tieši ierosināmo transkripciju, varētu būt saistīti ar biežāku AKS (īpaši MI) risku, jo spilgtā iekaisumreakcija biežāk izraisītu aterosklerotiskās pangas ruptūru. Jāuzsver, ka šī darba uzdevumos neietilpa gēnu transkripcijas aktivitātes analīze, tomēr augstāk aprakstītā polimorfismu potenciālā ietekme uz gēna ekspresiju ir viens no pamatojumiem, kādēļ nepieciešams analizēt šo variāciju ietekmi uz KSS risku un tās klīnisko gaitu *pat tad, ja eksperimentālie pētījumi var norādīt uz polimorfismu atšķirīgu funkcionālo nozīmi.*

## **2.9. IL polimorfismu ietekme uz transkripcijas aktivitāti un to saistība ar KV notikumiem**

Nozīmīgākie literatūras dati apkopoti 2.6., 2.7. un 2.8. tabulā.

### **2.9.1. IL-6 (-174) G/C polimorfisms**

#### *IL-6 (-174) G/C un IL-6 ekspresija/līmenis*

Literatūras dati par IL-6 (-174) G/C polimorfisma ietekmi uz IL-6 gēna ekspresiju un IL-6 līmeni ir pretrunīgi. Agrīnākie *in vitro* pētījumi (*Fishman et al.*, 1998) liecināja, ka C alēle nosaka zemāku bazālo un G alēle - augstāku bazālo un ierosināto IL-6 sekrēciju HeLa šūnās. Bazālā IL-6 līmenis veselu personu plazmā bija divreiz augstāks GG genotipam, salīdzinot ar CC genotipu (*Fishman et al.*, 1998). Analogiska (G alēles saistība ar augstāku IL-6 līmeni) sakarība tika apstiprināta vēl trīs pētījumos (*Olivieri et al.*, 2002; *Burzotta et al.*, 2001; *Rivera-Chavez et al.*, 2003), un vienā pētījumā novērota augstāka bazālā IL-6 ekspresija taukaudos (*Cardellini et al.*, 2005). Pilnīgi pretēji rezultāti – augstāks IL-6 līmenis C alēles klātienē – tika konstatēti trīs citos darbos (*Kilpinen et al.*, 2001; *Brull et al.*, 2001; *Jones et al.*, 2001). Jāatzīmē, ka Kilpinena u.c. pētījumā speciāli tika analizēts indivīda vecuma faktors un konstatēts, ka C alēle paaugstināja gan bazālo, gan ierosināmo IL-6 sekrēciju jaundzimušiem, bet pieaugušiem netika novērota neviena no šīm ietekmēm (*Kilpinen et al.*, 2001). Par iespējamo polimorfisma nozīmes mazināšanos līdz ar vecumu liecina arī Olivjēri u.c. novērojums (*Olivieri et al.*, 2002) - C alēles nēsātājiem relatīvi zemākā bazālā ekspresija līdz ar vecumu pieaug, bet G alēlei pretēju tendenci nenovēroja. Ļoti labi veiktā pētījumā, kurā cilvēkiem pēc CABG katrs individuālais IL-6 promotora polimorfisms tika analizēts, ņemot vērā pārējās promotora ģenētiskās variācijas, tika atrasts, ka C alēles nēsātājiem ierosinātais IL-6 līmenis bija augstāks (*Kelberman et al.*, 2004a), lai gan šo efektu nebija iespējams šķirt no -596A un A8T12 alēļu ietekmes, ar kurām -174 C alēlei ir spēcīga nelīdzsvarotā saistība (LD). Pilnīgi pretēju sakarību – augstāku IL-6 līmeni pēc CABG personām ar GG genotipu - novēroja citi pētnieki (*Gaudino et al.*, 2003). No molekulārbioloģisko mehānismu izskaidrošanas viedokļa ļoti svarīga ir atrade, ka -174 C alēle sliktāk piesaista neidentificētu kodola proteīnu nekā G alēle (*Rivera-Chavez et al.*, 2003).

2.6. tabula. *In vitro* pētījumi, kuros analizēta gēnu ekspresijas saistība ar IL-1 klāstera vai IL-6 polimorfismiem

Polimorfisms, alēle vai genotips	Šūnu tips	Skaitis	Bazālā ekspresija	Ierosinātā ekspresija	Piezīmes	Vēres
-174C	HeLa	n=92	↓	LPS: ↔ IL-1: ↔	-	<i>Fishman et al.</i> , 1998.
-174G			↑	LPS: ↑ IL-1: ↑	-	
-174 C	Perifēro asiņu mononukleārās šūnas (no veselām personām)	n=62	↓ (ar vecumu palielinās)	-	1) Vecums: 29-93 gadi. 2) Nav korelācijas ar IL-6 līmeni <i>in vivo</i>	<i>Olivieri et al.</i> , 2002.
-174 G			↑ (ar vecumu nepalielinās)			
VNTR*2	Monocīti	-*	-	IL-1Ra: ↑	-	<i>Danis et al.</i> , 1995.
VNTR*2	Mononukleārās šūnas	-*	IL-1β: ↑	-	VNTR*2 ir nelīdzsvarotā saistībā ar -511T un +3954C	<i>Santtila et al.</i> , 1998.
-511 C/T			IL-1β: ↔ (-511T ↑ NS) IL-1β: ↔ (+3954CC ↑ NS)	-		
+3954 C/T						
VNTR*2	HUVEC	n=28	IL-1Ra: ↓	-	-	<i>Dewberry et al.</i> , 2000.
VNTR*2	Perifēro asiņu mononukleārās šūnas (no veseliem brīvpriekšiem)	n=55	IL-1Ra: ↑ IL-1β: ↓	IL-1Ra: ↔ IL-1β: ↔	-	<i>Vamvakopoulos et al.</i> , 2002.
-511 T	Perifēro asiņu mononukleārās šūnas (no kontrolgrupas)	n=134	-	IL-1β: ↓	-	<i>Iacoviello et al.</i> , 2005.

\* Abstraktā parauga lielums nav uzrādīts, pilna publikācija nav pieejama.



2.7. tabula. *In vivo* un klīniskie pētījumi, kuros analizēta saistība ar IL-6 polimorfismiem

Polimorfisms, alēle vai genotips	Analizētās grupas	Indivīdu skaits	IL-6 līmenis	CRP	FG	Citi parametri	Piezīmes	Vēre
-174 CC	Veseli indivīdi	n=102	Bazālais: ↓	-	-	-	-	<i>Fishman et al., 1998.</i>
-174 GG	Vidēja vecuma vīrieši ar negatīvu slodzes testu.	n=109	-	-	-	IMT ↑	-	<i>Rauramaa et al., 2000.</i>
-174 CC	Veseli jaundzimušie	n=92	<i>In vivo</i> : ↑ <i>In vitro</i> (LPS): ↑	-	-	-	Asinis no nabassaites	<i>Kilpinen et al., 2001.</i>
	Veseli pieaugušie	n=150	<i>In vivo</i> : ↔ <i>In vitro</i> : ↔				-	
-174 CC	Pēc CABG	n=127	Bazālais: ↔ Pēc 6h: ↑	-	-	-	-174C ir nelīdzsvarotā saistībā ar -596A	<i>Brull et al., 2001.</i>
-572 C			Bazālais: ↔ Pēc 6h: ↑					
-174 GG	Pēc CABG	n=111	Bazālais: ↔ Pēc 48h: ↑	Bazālais un pēc 48h ↔	Bazālais un pēc 48h ↔	Ilgāka hospitalizācija slimniekiem ar -174GG	-	<i>Burzotta et al., 2001.</i>
-174 C	Vidēja vecuma veseli vīrieši	n=2751	-	↑	↔	SAS ↑ KSS ↑ (RR=1,54)	Prospektīvs pētījums	<i>Humphries et al., 2001.</i>
-572 G/C			-	↔	↔	↔		
-174 C	Slimnieki ar abdominālās aortas aneirismu	n=466	↑	-	-	KV un visu iemeslu mortalitāte ↑	Prospektīvs pētījums	<i>Jones et al., 2001.</i>

## 2.7. tabulas turpinājums

<b>174 C un - 596A</b>	Slimnieki ar MI un VK (ECTIM)	n=1359 MI (n=640), VK (n=719);	-	-	↔	Biežāka slimniekiem ar 1-2 asinsvadu slimību vs. MAS; biežāka MI grupā	-174C gandrīz pilnībā korelē ar -596A	<i>Georges et al., 2001.</i>
<b>-572 G/C</b>			-	-	↔	↔	-	
<b>-174 G/C</b>	Veseli medicīnas darbinieki	n=598	↔	-	↔	-	-	<i>Margaglione et al., 2001.</i>
<b>-174 C</b>	Veseli indivīdi	n=62	Bazālais: ↓ (nozīmīgs tikai vīriešiem)	-	-	-	Nav korelācijas starp IL-6 plazmā un in vitro	<i>Olivieri et al., 2002.</i>
<b>-174 G/C</b>	Slimnieki, kam veikta koronārā angiogrāfija un VK (LURIC)	n=3288 KAS un MI (n=1365) KAS bez MI (n=1194) AK (n=729)	↔ (n=942)	↔	-	Angiogrāfiski ↔	Gadījumu-kontroles pētījums	<i>Nauck et al., 2002.</i>
<b>-174C</b>	Gados veci slimnieki ar vai bez KVS	n=424	↔ (↑ NS)	↑	↑	Ar MRI diagnosticēti MI: ↑	-	<i>Jenny et al., 2002.</i>
<b>-174CC</b>	WOSCOPS pētījuma apakšanalīze (KSS primārā profilakse vidēja vecuma vīriešiem)	KSS: n=495 VK: n=1109	↔ (NS ↑)	↔	(NS ↑)	Pravastatīns efektīvāk ↓ ZBL-H un KVS risku. Placebo grupā ↔.	Prospektīvs pētījums	<i>Basso et al., 2002.</i>
<b>-572 G/C</b>			↔	↔	↔	↔	-	

## 2.7. tabulas turpinājums

-174C	98 ģimenes	n=588	-	↑ (pārman- tojama pazīme)	-	-	-	<i>Vickers et al., 2002.</i>
-174G & -596G -572 G/C	Veselas personas. Ex vivo leikocītu stimulācija ar LPS	n=49	Ierosinātais: ↑ ↔	- - -	- - -	- - -	Atzīmē haplotipu esamību	<i>Rivera-Chavez et al., 2003.</i>
-174C -572G	Sievietes postmenopauzē ar osteoporozi	n=495	- -	↓ ↓	- -	- -	- -	<i>Ferrari et al., 2003.</i>
-174 C	Nejaušināti atlasīti Austrālijas iedzīvotāji	n=1109	-	-	-	1. Biežākas pangas (CC vs GG) 2. IMT ↑ personām >53 gadiem (mediānais vecums)	-	<i>Chapman et al., 2003.</i>
-174 GG	Slimnieki, kam tiek veikta CABG	n=111	Ierosinātais: ↑	-	-	-	Sliktāka postoperatīvā nieru un plaušu funkcija, ilgstošāka MPV un stacionēšanas ilgums	<i>Gaudino et al., 2003.</i>
-174 G/C	Veseli asins donori	n=338	-	↔	-	-	-	<i>Eklund et al., 2003.</i>
-174 G/C	Slimnieki pēc MI; VK	n=1179; n=1528	↔	-	-	MI risks: ↔	Gadījumu- kontroles pētījums	<i>Bennet et al., 2003.</i>

## 2.7. tabulas turpinājums

-174 C	Gados veci slimnieki ar MI un VK	-*	-	-	-	MI: ↑	Īpaši ↑ MI risks, ja vienlaicīgi kopā ar -511C un ApoE ε4 alelēm. Vienmoment-pētījums.	<i>Licastro et al., 2004.</i>
-174 C	MI un VK Eiropas ziemeļos un dienvidos	-*	↔	-	-	↓ MI (ziemeļu, bet ne dienvidu valstīs)	-174 C biežāka Ziemeļvalstīs (0,43 vs. 0,28).	<i>Kelberman et al., 2004b.</i>
-572 G/C			↔	-	-	↔	Alēļu biežums: ↔	
-174 C	Slimnieki, kam tiek veikta CABG	n=132	Ierosinatais: ↑	-	-	-	Katrs polimorfisms tiek analizēts, ņemot vērā promotora haplotipa parējos poli-morfismus	<i>Kelberman et al., 2004a.</i>
-572 C			Ierosinatais: ↑	-	-	-		
A9T11 HZ (vs. A10T11 HZ)			Ierosinatais: ↑	-	-	-		
-174 G/C	Stimulācija ar i.v. LPS veselām personām.	n=76	Bazālais un ierosinatais: ↔	-	-	-	-	<i>Endler et al., 2004.</i>
-174 C	Gados veci slimnieki (>90 gadi)	n=285	-	-	-	Retāk sasniedz lielāku vecumu	Citi pētījumi ir pretrunīgi	<i>Hurme et al., 2005.</i>
-174 GG	Adipozi slimnieki	n=77	Bazālā IL-6 ekspresija: ↑	-	-	-	-	<i>Cardellini et al., 2005.</i>
-174 C	Slimnieki ar MI; VK.	n=200; n=257	Slimniekiem ar MI: ↑ (CC vs. GG)	-	-	C alēle biežāka veciem ar MI. Jauniem neatšķiras	-	<i>Chiapelli et al., 2005.</i>

2.8. tabula. *In vivo* un klīniskie pētījumi, kuros analizēta saistība ar IL-1 klāstera polimorfismiem

Polimorfisms, alēle vai genotips	Analizētās grupas	Indivīdu skaits	IL līmenis	CRP	FG	Citi parametri	Piezīmes	Vēres
VNTR*2 -511 +3954	Veseli asins donori	n=200	IL-1Ra ↑  IL-1Ra ↔ (-511T pastiprina VNTR*2 efektu) IL-1Ra ↔ (+3954CC pastiprina VNTR*2 efektu)	-	-	-	VNTR*2 korelēja ar -511T un retāku +3954T	<i>Hurme &amp; Santtila, 1998.</i>
VNTR*2 +3954 -511 VNTR*2	Slimnieki ar KSS un VK  Slimnieki, kam veikta koronārā angiogrāfija un VK	n=195  n=1383; VAS (n=98), MAS (n=328), SKG (n=130), VK (n=827)	-  - - -	Biežāka slimniekiem ar CRP ≥ 3 mg/l (NS)	-  - - -	↔ starp slimnieku grupām; Biežāka slimniekiem ar MI <40 gadiem (NS) Angiogrāfiski ↔ Angiogrāfiski ↔ Biežāka slimniekiem ar VAS	MI (n=74), SSt (n=21), NSt (n=20), VK (n=80)	<i>Manzoli et al., 1999.</i>  <i>Francis et al., 1999.</i>
VNTR -511 C/T	Veseli asins donori	n=400	IL-1β: ↔ IL-1β: ↔	-	-	-	- -511T ietekmē IL-1A(-889) efektu	<i>Hulkkonen et al., 2000.</i>

## 2.8. tabulas turpinājums

<b>+3954T</b>	Slimnieki, kam veikta koronāra angiogrāfija	n=454	-	↑	↑	-	-	<i>Berger et al., 2001.</i>
<b>-511T</b>			-	↓	↓	-	-	
<b>IL-1RN (-2018) C</b>			-	↓	↓	-	-	
<b>IL-1RN (+2018) -511</b>	Slimnieki ar reimatoīdo artrītu;	n=297; n=112	IL-1Ra: ↔	-	-	-	-	<i>Buchs et al., 2001.</i>
<b>+3954T</b>	VK		IL-1Ra: ↔	-	-	-	-	
			IL-1Ra: ↓	-	-	-	Destruktīvāka artrīta gaita	
<b>VNTR*2</b>	VB, vakcinēti pret dzelteno drudzi	n=34	Bazālais: IL-1Ra ↑ IL-1β ↓ Ierosinātais: ΔIL-1Ra: ↔ ΔIL-1β: ↔	-	-	-	-	<i>Hacker et al., 2001.</i>
<b>VNTR</b>	Veselu vīriešu kohorts	n=770	-	-	-	↔	MI (n=385) un kontroles (n=385) no 12 gadu novērojuma	<i>Zee et al., 2001.</i>
<b>VNTR*2</b>	Slimnieki, kam veikta koronārā angiogrāfija	n=292	-	-	-	KAS: ↑ Biežāks MI	Saistība ar KAS	<i>Momiyama et al., 2002.</i>
<b>VNTR*3</b>			-	-	-	<i>Chlamidia pneumoniae</i>	neatkarīgi no IgG	
<b>-511 CC</b>			-	-	-	IgG pozitīviem alēļu nēsātājiem		

## 2.8. tabulas turpinājums

VNTR*2	Slimnieki ar AKS BSTE.	n=63	$\Delta$ IL-1Ra $\leftrightarrow$	$\Delta$ CRP $\leftrightarrow$	$\Delta$ $\leftrightarrow$	$\Delta$ E-selektīns ↑ $\Delta$ vWF ↑	Analizēta marķieru paaugstināšanās 24h laikā	<i>Ray et al., 2002.</i>
VNTR*2	Slimnieki, kas hospitalizēti ar aizdomām par KSS ar vai bez 2. tipa CD	n=787	-	-	-	↑ KAS slimniekiem ar CD. $\leftrightarrow$ KAS slimniekiem bez CD	KAS kritēriji kombinēti: koronārā angiogrāfija, slodzes tests, miokarda perfūzijas scintigrāfija	<i>Marculescu et al., 2002.</i>
VNTR	Veseli asins donori	n=338	-	$\leftrightarrow$	-	-	-	<i>Eklund et al., 2003.</i>
-511 C/T			-	$\leftrightarrow$	-	-	-511C un +3954T	
+3954 C/T			-	↓	-	-	haplotips biežāks slimniekiem ar zemu CRP	
VNTR	Slimnieki ar ishēmisku insultu; VK pēc vecuma un dzimuma; VK no Itāļu populācijas	n=110; n=101; n=1303	-	-	-	Slimniekiem ar insultu biežāka VNTR*1	Slimniekiem ar insultu VNTR*1 korelē ar -511C	<i>Seripa et al., 2003.</i>
-511 C/T			-	-	-	$\leftrightarrow$		

## 2.8. tabulas turpinājums

-511 C/T	Slimnieki, kam veikta koronārā angiogrāfija	KAS (+) n=335 KAS (-) n=205	-	-	-	Angiogrāfiski KAS: ↔	-	<i>Vohnout et al., 2003.</i>
VNTR			-	-	-	Angiogrāfiski KAS: ↔	-	
VNTR	Slimnieki, kam tiek veikta femoropopliteāla PTA	n=183	-	↔	-	-	VNTR*2 kombinācija ar -511CT vai TT saistīta ar CRP ↑ (un restenozi)	<i>Marculescu et al., 2003</i>
-511 C/T			-	↔	-	-	MI risks ↑, ja C alēle vienlaicīgi kopā ar -174C un ApoE ε4 alēlēm.	<i>Licastro et al., 2004.</i>
-511 C/T	Gados veci slimnieki ar MI un VK. Vienmomenta pētījums.	-	-	-	-	MI: ↔	MI risks ↑, ja C alēle vienlaicīgi kopā ar -174C un ApoE ε4 alēlēm.	<i>Licastro et al., 2004.</i>
VNTR	Slimnieki ar angiogrāfiski pierādītu KAS	n=300	-	-	-	KV notikumu risks: ↔	Nav saistības arī analizējot mijiedarbību ar CMV.	<i>Rothenbacher et al., 2005.</i>
+3954 T	Veseli asins donori	n=336	-	↓ CRP	-	-	Tikai personām ar (+1059)GG	<i>Eklund et al., 2005.</i>
-511 T	Jauni slimnieki ar MI; VK.	n=825 (n=406 un n=419)	(IL-1β ↓ in vitro)	-	-	MI: ↓	Ko-dominants efekts	<i>Iacoviello et al., 2005.</i>
	Jauni slimnieki ar insultu un VK.	n=268 (n=134 un n=134)				Insults: ↓		



Tomēr vairumā pētījumu, kuros mērīts IL-6 līmenis plazmā, šī polimorfisma saistība ar IL-6 līmeni nav konstatēta (*Margaglione et al., 2001; Nauck et al., 2002; Jenny et al., 2002; Basso et al., 2002; Bennet et al., 2003; Endler et al., 2004; Kelberman et al., 2004b*), lai gan divos pētījumos C alēles nēsātājiem IL-6 līmenis bija statistiski nenozīmīgi augstāks (*Jenny et al., 2002; Basso et al., 2002*). Jāpiezīmē, ka ne visos šajos pētījumos tika analizēts kā bazālais, tā arī ierosinātais IL-6 līmenis. Bez tam tajos iekļauto personu grupas bija atšķirīgas.

#### IL-6 (-174) G/C un iekaisuma marķieri

Trīs pētījumos C alēle bijusi saistīta ar paaugstinātu CRP līmeni (*Humphries et al., 2001; Jenny et al., 2002; Vickers et al., 2002*), turklāt vienā no tiem tika konstatēts, ka C alēle ir pārliecinošs faktors, kas nosaka augstāka CRP līmeņa pārmantošanu ģimenē (*Vickers et al., 2002*). Tikai vienā pētījumā, kurā tika iekļautas vienīgi osteoporozes slimnieces, C alēles klātie bija asociēti ar zemāku CRP līmeni (*Ferrari et al., 2003*). Citos četros pētījumos (*Burzotta et al., 2001; Nauck et al., 2002; Basso et al., 2002; Eklund et al., 2003*), no kuriem vienā analizēts CRP līmenis pirms un agrīni pēc CABG (*Burzotta et al., 2001*), IL-6 (-174) G/C polimorfisms nebija saistīts ar CRP līmeni.

Pozitīva C alēles saistība ar FG līmeni atrasta tikai pētījumā ar veciem cilvēkiem ar vai bez KVS (*Jenny et al., 2002*), un vienā analizē šī sakarība nebija statistiski ticama (*Basso et al., 2002*). Četros pētījumos IL-6 (-174) G/C polimorfisms neietekmēja FG līmeni. (*Burzotta et al., 2001; Humphries et al., 2001; Georges et al., 2001; Margaglione et al., 2001*). Kelbermans u.c. (*Kelberman et al., 2004a*) salīdzināja AG8/12C (biežākais haplotips) homozigotus ar AG8/12G (rets haplotips) homozigotiem, lai precizētu -174 C alēles ietekmi: C homozigotiem bija krietni augstāks IL-6 līmenis pēc CABG operācijas. Tomēr jāuzsver, ka vairāk nekā 99% gadījumu C alēle mēdz būt asociēta ar A8T12 alēli un -596 A alēlēm, tādēļ šai izolētai C alēles ietekmei no praktiskā viedokļa ir maza nozīme.

#### IL-6 (-174) G/C un aterotrombozes/KV notikumu risks

Vienīgos divos pētījumos, kur analizēta miega artēriju IMT (*intima-media thickness* – intīmas un medijas biezums) saistībā ar šo polimorfismu, konstatēti pretēji rezultāti (*Rauramaa et al., 2000; Chapman et al., 2003*), kas nepārliecinoši, bet tomēr varētu būt skaidrojami ar populāciju dažādo etnisko piederību. Somijas vīriešiem GG

genotips bija saistīts ar biežāku IMT (*Rauramaa et al., 2000*), savukārt plašākā pētījumā ar Austrālijas baltās rases iedzīvotājiem biežāku IMT (tikai pēc 53 gadu vecuma) un biežākas aterosklerotiskas pangas konstatēja C alēles nēsātājiem (*Chapman et al., 2003*).

No diviem *angiogrāfiskiem* pētījumiem vienā neatrada polimorfisma genotipu proporcionālas atšķirības starp personām ar KSS un MI, KSS bez MI un angiogrāfisko kontrolgrupu (*Nauck et al., 2002*). Otrā pētījumā C alēli biežāk konstatēja personām ar vienas vai divu vainagartēriju slimību, salīdzinot ar trīs artēriju slimību, kas tika interpretēts ar agrāku slimnieku hospitalizāciju komplikētākas slimības gaitas dēļ pie mazāk izplatīta artēriju aterosklerozes apjoma (*Georges et al., 2001*), kas atbilst novērojumam, ka C alēle šai grupā bija biežāk atrodama MI slimniekiem.

Vairākos vienmomenta (*cross-sectional*) pētījumos analizēta polimorfisma ietekme uz *klīniskiem* notikumiem. Vienā pētījumā C alēle biežāk tika konstatēta MI slimniekiem (*Georges et al., 2001*), savukārt citā tā bija saistīta ar retāku MI Ziemeļeiropas, bet ne Dienvideiropas valstīs (*Kelberman et al., 2004b*). Jāpiebilst, ka tai pašā darbā (*Kelberman et al., 2004b*) C alēles izplatība Ziemeļeiropā bija daudz biežāka (43% vs. 28% Dienvideiropā). Vienīgā no citām analizēm, kas vēl norāda uz G alēles nelabvēlīgo nozīmi, ir pētījums ar CABG, kurā ilgstošāka hospitalizācija tika novērota personām ar GG genotipu, tātad samērā specifiska situācija, kas nevar tikt ekstrapolēta uz citām personu grupām (*Burzotta et al., 2001*). Citā darbā ar veciem cilvēkiem C alēles nēsātājiem Dženija u.c. konstatēja biežākus MI gadījumus, tos diagnosticējot ar īpaši precīzo MRI, bet anamnētiski klīnisko notikumu biežums neatšķīrās (*Jenny et al., 2002*). Koronāro notikumu atšķirību starp genotipiem nenovēroja arī gadījumu-kontroles pētījumā no LURIC kohortas (*Nauck et al., 2002*) un vēl vienā gadījumu-kontroles pētījumā (*Bennet et al., 2003*).

Kādas pētnieku grupas divos darbos C alēle bija neatkarīgs MI riska faktors veciem, bet ne jauniem cilvēkiem (*Licastro et al., 2004; Chiappelli et al., 2005*). Lielāka KV un visu cēloņu mirstība novērota personām ar abdominālās aortas aneirismu, kuri bija C alēles nēsātāji (*Jones et al., 2001*). Plašā prospektīvā pētījumā, kurā tika novēroti vidēja vecuma sākotnēji veseli vīrieši, C alēle bija saistīta ar augstāku sistolisko asinsspiedienu un KSS risku (*Humphries et al., 2001*), lai gan absolūtais efekts attiecībā uz KSS bija neliels (OR=1,54). Atlasot MI gadījumu un veselo kontrolgrupas no prospektīvā primārās profilakses pētījuma WOSCOPS, kurā vidēja vecuma vīrieši tika randomizēti terapijai ar pravastatīnu vai placebo,

polimorfisms nebija saistīts ar kardiovaskulāro notikumu risku placebo grupā (*Basso et al.*, 2002). Tomēr būtisks atzinums tika izdarīts aktīvās terapijas grupā – personām ar CC genotipu pravastatīns efektīvāk mazināja gan ZBLH līmeni, gan KV notikumus (*Basso et al.*, 2002). Nelabvēlīgu C alēles saistību ar retāku liela vecuma sasniegšanu ziņojis Hurme u.c. (*Hurme et al.*, 2005), ko apstiprina Kristiansena u.c. dati (*Christiansen et al.*, 2004), bet ne cits pētījums (*Capurso et al.*, 2004).

#### *IL-6 (-174) G/C: kopsavilkums*

Lai gan analīžu rezultāti ir pretrunīgi, publicēto datu kopums vedina domāt, ka, C alēlei, esot vairāk saistītai ar zemāku bazālo un ierosināmo IL-6 līmeni (kas līdz ar vecumu mazinās), paradoksālā kārtā pārsvarā ir paaugstinoša ietekme uz CRP, bet ne FG līmeni. Arī no pētījumiem, kur analizēts aterotrombozes/KVS risks un mūža ilgums, vairums liecina par C alēles saistību ar nelabvēlīgiem notikumiem.

#### **2.9.2. IL-6 (-572) G/C polimorfisms**

##### *IL-6 (-572) G/C un IL-6 ekspresija/līmenis*

*Medline* datubāzē nav izdevies atrast nevienu publikāciju, kur būtu aplūkota šā polimorfisma ietekme uz ekspresiju *in vitro*. Divos ziņojumos par *in vivo* datiem ir konstatēts augstāks ierosinātais, bet ne bazālais IL-6 līmenis personām pēc CABG, kas bija C alēles nēsātāji (*Brull et al.*, 2001), arī tad, ja citas haplotipa komponentes neatšķīrās (*Kelberman et al.*, 2004a). Pārējos pētījumos nav atrastas nekādas IL-6 līmeņa atšķirības starp genotipiem (*Basso et al.*, 2002; *Rivera-Chavez et al.*, 2003; *Kelberman et al.*, 2004b).

##### *IL-6 (-572) G/C un iekaisuma marķieri*

Tikai vienā analizē osteoporozes slimniecēm tika konstatēts zemāks CRP līmenis G alēles nēsātājiem (*Ferrari et al.*, 2003). Pārējos pētījumos CRP un/vai FG līmenis nebija atkarīgs no šā polimorfisma (*Humphries et al.*, 2001; *Georges et al.*, 2001; *Basso et al.*, 2002).

### IL-6 (-572) G/C un aterotrombozes/KV notikumu risks

Nevienā pētījumā nav konstatēta polimorfisma ietekme uz aterotrombozes/KV notikumu risku (*Humphries et al.*, 2001; *Georges et al.*, 2001; *Basso et al.*, 2002; *Kelberman et al.*, 2004b).

### IL-6 (-572) G/C: kopsavilkums

Šis polimorfisms ir daudz mazāk pētīts nekā IL-6 (-174)G/C, un, lai gan atsevišķi dati norāda uz iespējamu C alēles proinflammatorisku efektu, tomēr vairums angiogrāfisko un klīnisko pētījumu liecina, ka šā polimorfisma alēļu ietekme uz KSS un koronāro komplikāciju risku, visticamāk, ir maznozīmīga vai neitrāla.

### 2.9.3. IL-6 -596 G/A

Literatūrā ir minimāla informācija par šo polimorfismu, jo tas stipri nelīdzsvaroti saistīts ar -174 G/C (*Georges et al.*, 2001; *Rivera-Chavez et al.*, 2003) un nav datu par iespējamo nelielo abu polimorfismu atšķirību.

### 2.9.4. IL-6 (-373) AnTn

Variablais AnTn trakts ir vismazāk pētītais no IL-6 promotora polimorfismiem, un visās trīs nozīmīgajās publikācijās tas skatīts haplotipu kontekstā (*Terry et al.*, 2000; *Acalovschi et al.*, 2003; *Kelberman et al.*, 2004a). Tikai vienā pētījumā (pēc CABG) analizēta arī AnTn alēļu ietekme uz IL-6 līmeni, salīdzinot haplotipus (sk. turpmāk), kas atšķirās tikai ar AnTn (*Kelberman et al.*, 2004a), bet pārējās ģenētiskās variācijas bija identiskas: -596GG, -572GG un -174GG. Tika konstatēts, ka A9T11 homozigotiem IL-6 līmenis bija krietni augstāks nekā A10T11 homozigotiem. Biežākās A8T12 alēles ietekmi nebija iespējams skaidri nodalīt no -174 C un -596 A alēļu efektiem, jo starp šīm alēlēm ir ļoti spēcīga nelīdzsvarotā saistība, veidojot biežāko haplotipa variantu (*Kelberman et al.*, 2004a).

### Kopsavilkums

Lai gan IL-6 (-373) AnTn polimorfisms, domājams, ietekmē IL-6 ekspresiju, līdz šim citējamā literatūrā nav publicēts neviens pētījums par šīs potenciāli nozīmīgās variācijas saistību ar KSS risku. Jāatzīmē, ka, ņemot vērā AnTn variantu nelīdzsvaroto saistību ar -174 G/C, -572 G/C un -596 G/A alēlēm, šo polimorfismu ir nepieciešams analizēt tikai kopā ar minētajiem SNP. Bez tam, tā kā AnTn trakts veido vairākas

alēles, statistiski ticamu rezultātu iegūšanai nepieciešama relatīvi liela pētījuma populācija. Šajā sakarā jāpiebilst, ka iepriekšējās analīzes balstījās uz samērā nelielu indivīdu skaitu.

#### **2.9.5. IL-6 promotora haplotipi**

Jau iepriekš citētā darbā (*Terry et al., 2000*) tika aplūkota haplotipu ietekme uz IL-6 transkripciju, tos inkorporējot HeLa šūnās (epitēlija izcelsmes) un ECV304 šūnās, kam raksturīgas endotēlijam līdzīgas īpašības. Tā kā endotēlijam ir liela nozīme aterosklerozē, ECV304 šūnu eksperimentālais modelis ir svarīgāks no KSS patogēnēzes viedokļa. Transkripcijas līmenis tika analizēts pirms un pēc IL-1 stimulācijas ar vai bez deksametazona inhibējošās klātnes (sk. 2.9. tabulu). Eksperimentos ar ECV304 šūnām AG8/12C (autora darbā Hap\*1) demonstrēja augstāku ekspresiju, lai gan absolūtā atšķirība no pārējiem haplotipiem nebija liela. Pēc stimulācijas ar IL-1 visvairāk ekspresija pieauga GG9/11G (Hap\*2) kloniem, savukārt AG8/12G (Hap\*9) ierosinātā ekspresija bija vājāka nekā pārējiem haplotipiem, izņemot vienīgi salīdzinājumā ar GC10/10G (Hap\*5). AG8/12C (Hap\*1) bija vienīgais no haplotipiem, kura stimulēto aktivitāti izdevās reducēt ar deksametazonu līdz līmenim, kas bija pat zemāks par bazālo. Deksametazona klātienē ar GG10/11G (Hap\*3) ekspresija bija viszemākā (visizteiktākā supresija).

Pētījumā, kur šie haplotipi tika analizēti 34 insulta slimniekiem un 21 cilvēkam no veselo kontrolgrupas (*Acalovschi et al., 2003*), abās grupās AG8/12C (Hap\*1) bija saistīts ar zemāku ķermeņa temperatūru un CRP līmeni, kas bija statistiski ticami kontrolgrupā, kā arī ar viszemāko ierosināto IL-6 līmeni (sk. 2.9. tabulu). Savukārt (Hap\*2) un (Hap\*5) ierosinātais IL-6 līmenis bija augstāks. Bazālais IL-6 līmenis starp haplotipiem šai pētījumā nebija atšķirīgs.

## 2.9. tabula. Interleikīna-6 haplotipu funkcionālo īpašību pētījumi: ietekme uz IL-6 ekspresiju

N.p.k.*	Haplotipu raksturojums	Terry et al., 2000			Acalovschi et al., 2003	
		In vitro (ECV304 šūnas) transkripts			In vivo: IL-6 līmenis serumā	
		Bazālais	IL-1 ierosinātais	Supresētais <sup>†</sup>	Bazālais	Ierosinātais
1	AG8/12C	↑	-	↓	-	↓
2	GG9/11G	-	↑	-	-	↑
3	GG10/11G	-	-	↓	-	-
4	GG10/10G	-	-	-	-	-
5	GC10/10G	-	-	-	-	↑
6	GG9/12G	XX <sup>‡</sup>	XX	XX	XX	XX
7	GG9/11C	-	-	-	-	-
8	AG9/11C	XX	XX	XX	XX	XX
9	AG8/12G	-	↓ (izņemot vs. GC10/10G)	-	-	-
10 <sup>§</sup>	AG10*/11G (G delēcija blakus AnTn)	-	-	-	-	-

\* Haplotipu numurs pēc kārtas, atbilstoši šai darbā izmantotajai numerācijai.

† Ar deksametazonu supresētā IL-6 ekspresija pēc stimulācijas ar IL-1.

‡ „XX” – haplotipa variants publicētajā darbā nebija novērots.

§ Promocijas darba ietvaros netika konstatēts nevienam slimniekam.

SNP haplotipu varianti (bez AnTn) tika analizēti 49 veselām personām (*Rivera Chavez et al.*, 2003). Haplotipu biežums pēc -596 G/A, -572 G/C un -174 G/C polimorfismiem attiecīgi bija GGG (n=55, 56%), GCG (n=16, 16%) un AGC (n=27, 28%). Pēc stimulācijas ar LPS, viszemākais IL-6 līmenis tika novērots AGC haplotipa homozigotiem, bet visaugstākais – GGG haplotipa homozigotiem. Turklāt šī atšķirība parādījās augsta LPS līmeņa gadījumā. Daļai tika sekvencēts arī AnTn trakts, tomēr atrastie četri varianti nebija saistīti ar LPS stimulēto IL-6 līmeni, lai gan pētnieki atzīst, ka šāda sakarība nav izslēgta, ja būtu analizēts lielāks paraugu skaits.

Kādā pētījumā, ko veica Kelbermans u.c., haplotipi tika ņemti vērā, lai noskaidrotu atsevišķu polimorfismu ietekmi uz IL-6 līmeni, tomēr pašu haplotipu saistība ar to netika aprakstīta (*Kelberman et al.*, 2004a). Piemēram, bija iespējams atsevišķi analizēt -174 C alēles nozīmi, kad AG8/12C (Hap\*1) homozigoti tika salīdzināti ar AG8/12G (Hap\*9) homozigotiem. Savukārt A8T12 alēles ietekmi nebija iespējams diferencēt, jo visos gadījumos tā bija saistīta ar -174 C alēli. Turklāt arī -174 C alēle, kā jau iepriekš minēts, tikai retos gadījumos (<1%) neatrodas vienā haplotipā ar A8T12. Citi šās analīzes rezultāti ir aprakstīti jau iepriekš.

### *Kopsavilkums*

Lai gan IL-6 promotora haplotipu nozīme attiecībā uz KSS risku un slimības gaitu nav pētīta, tomēr līdz šim veiktie eksperimentālie dati apstiprina to ietekmi uz ekspresiju un norāda uz nepieciešamību ņemt vērā arī haplotipus, kad tiek analizēta IL-6 promotora ģenētisko variāciju saistība ar iekaisuma aktivitāti un KSS attīstību. Jāuzsver, ka līdz šim publicēti tikai daži pētījumi, kuros tikuši analizēti IL-6 promotora apvidus haplotipi, turklāt visos iekļauto personu skaits bija neliels.

### **2.9.6. IL-1B (+3954) C/T**

#### *IL-1B (+3954) C/T un IL-1β ekspresija/līmenis*

Vienīgajā *in vitro* pētījumā netika konstatēta statistiski ticama +3954 SNP nozīme, lai gan CC genotipam bija tendence uz augstāku bazālo IL-1β ekspresiju (*Santtila et al.*, 1998). Atbilstoši šim novērojumam reimatoīdā artrīta slimnieku pētījumā T alēles nēsātājiem IL-1Ra līmenis bija pazemināts (*Buchs et al.*, 2001). Citā veselu asins donoru grupā IL-1Ra līmenis nebija atkarīgs no šā polimorfisma, tomēr

CC genotips pastiprināja IL-1RN (VNTR)\*2 ietekmi uz IL-1Ra līmeni (*Hurme & Santtila, 1998*).

#### *IL-1B (+3954) C/T un iekaisuma marķieri*

Divos pētījumos, kuros analizēta SNP ietekme uz iekaisuma marķieriem, iegūti pretēji rezultāti – T alēles saistība gan ar zemāku CRP (*Eklund et al., 2003*), gan augstāku CRP un FG līmeni (*Berger et al., 2002*).

#### *IL-1B (+3954) C/T un aterotrombozes/KV notikumu risks*

Vienīgajā pētījumā, kur analizēts arī klīnisko notikumu risks, polimorfisma saistība ar to netika atrasta (*Francis et al., 1999*).

#### *IL-1B (+3954) C/T: kopsavilkums*

Pašreiz pieejama pārāk skopa un pretrunīga informācija, lai būtu iespējams izdarīt secinājumus par šās ģenētiskās variācijas nozīmi iekaisuma aktivitātes regulācijā un KSS patoģenēzē.

### **2.9.7. IL-1B (-511) C/T**

#### *IL-1B (-511) C/T un IL-1β ekspresija/līmenis*

Pirmajā publicētajā *in vitro* pētījumā netika atrasta statistiski ticama polimorfisma ietekme uz IL-1β līmeni, lai gan T alēle bija saistīta ar tendenci uz augstāku IL-1β līmeni (*Santtila et al., 1998*). Tomēr nesen publicēti dati uzrādīja samazinātu IL-1β producēšanu mononukleārām šūnām ar T alēli (*Iacoviello et al., 2005*). No *in vivo* pētījumiem nevienā nav atrasta saistība ar IL-1β (*Hulkkonen et al., 2000*) vai IL-1Ra (*Hurme & Santtila S, 1998; Buchs et al., 2001*) līmeni. Vienā no šiem pētījumiem T alēle pastiprināja VNTR\*2 korelāciju ar augstāku IL-1Ra līmeni (*Hurme & Santtila, 1998*).

#### *IL-1B (-511) C/T un iekaisuma marķieri*

Divos pētījumos CRP līmenis nekorelēja ar šo polimorfismu (*Eklund et al., 2003; Marculescu et al., 2003*) un vienā pētījumā T alēle bija saistīta ar zemāku CRP un FG līmeni (*Berger et al., 2002*).



### *IL-1B (-511) C/T un aterotrombozes/KV notikumu risks*

Divos koronārās angiogrāfijas pētījumos polimorfisms nebija saistīts ar KSS (Francis *et al.*, 1999; Vohnout *et al.*, 2003), bet vienā – CC genotips bija saistīts ar biežāku KSS, pastāvot arī mijiedarbībai ar *Chlamydia pneumoniae* infekciju (Momiya *et al.*, 2001). Salīdzinot vecus MI slimniekus un veselo kontrolgrupu, šis polimorfisms nebija saistīts ar MI risku, lai gan C alēle MI risku papildus paaugstināja -174 C un ApoE ε4 alēļu nēsātājiem (Licastro *et al.*, 2004). Alēļu sadalījuma atšķirības netika novērotas arī starp personām ar ishēmisku insultu un veselo kontrolgrupu (Seripa *et al.*, 2003). Tomēr vienā no jaunākajiem darbiem ir parādīts, ka -511 T alēle devatkarīga veidā saistīta ar mazinātu MI un insulta risku jauniem cilvēkiem (Iacoviello *et al.*, 2005).

### *IL-1B (-511) C/T: kopsavilkums*

Lai gan pētījumu nav daudz un vairākums ir ar neitrāliem rezultātiem, klīniskie pētījumi, kuros analizēta saistība ar MI, norāda uz T alēles iespējamo protektīvo un C alēles proaterogēnisko ietekmi.

### **2.9.8. IL-1RN (VNTR)**

#### *IL-1RN (VNTR) un IL-1Ra vai IL-1β ekspresija/līmenis*

VNTR polimorfisma ietekme uz IL ekspresiju analizēta četros *in vitro* pētījumos (Danis *et al.*, 1995; Santtila *et al.*, 1998; Dewberry *et al.*, 2000; Vamvakopoulos *et al.*, 2002). Vienā no tiem VNTR\*2 klātienē IL-1β bazālā ekspresija bija paaugstināta (Santtila *et al.*, 1998), bet citā - pazemināta (Vamvakopoulos *et al.*, 2002). Tās pašas alēles klātienē bazālais IL-1Ra līmenis mononukleārās šūnās bija paaugstināts (Vamvakopoulos *et al.*, 2002), bet HUVEC šūnās - pazemināts (Dewberry *et al.*, 2000). Lai gan vienā no pirmajiem darbiem ierosinātā IL-1Ra ekspresija bija augstāka VNTR\*2 klātienē (Danis *et al.*, 1995), ne IL-1β, ne IL-1Ra ierosinātās ekspresijas pārmaiņu atkarība no VNTR\*2 netika konstatēta citā pētījuma (Vamvakopoulos *et al.*, 2002).

No *in vivo* datiem, kas iegūti no veselām personām, VNTR\*2 nēsātājiem divos pētījumos bazālais IL-1Ra līmenis bijis paaugstināts (Hurme & Santtila, 1998; Hacker

*et al.*, 2001), vienā bazālais IL-1 $\beta$  līmenis – pazemināts (*Hacker et al.*, 2001) un vienā bazālais IL-1 $\beta$  līmenis – nemainīgs (*Hulkkonen et al.*, 2000). Ierosinātais IL-1Ra un IL-1 $\beta$  līmenis nav bijis atkarīgs no IL-1RN(VNTR) genotipa (*Hacker et al.*, 2001; *Ray et al.*, 2002). Arī darbā, kur analizēts cits IL-1RN gēna polimorfisms ((+2018)C/T), netika atrasta sakarība ar IL-1Ra līmeni reimatoīdā artrīta slimniekiem (*Buchs et al.*, 2001). Zināms, ka IL-1RN (+2018)C alēlei ir stipra nelīdzsvarota saistība ar VNTR\*2 (*Clay et al.*, 1996), tādēļ nevar izslēgt, ka minētā atrade skaidrojama ar VNTR polimorfismu vai arī – gluži pretēji – citos pētījumos atrastā sakarība ar VNTR patiesībā atspoguļo IL-1RN(+2018) C/T vai kāda cita polimorfisma ietekmi.

#### *IL-1RN (VNTR) un iekaisuma marķieri*

Publicēti trīs pētījumi, kuros CRP līmenis analizēts no VNTR polimorfisma aspekta. Personām ar AKS BSTE netika atrasta saistība ar CRP pārmaiņām 24 stundu laikā (*Ray et al.*, 2002). Cilvēkiem pirms PTCA bazālais CRP līmenis arī nebija saistīts ar VNTR polimorfismu vienu pašu, lai gan tas bija paaugstināts personām, kas vienlaikus bija VNTR\*2 un -511T alēļu nēsātāji (*Marculescu et al.*, 2003). Tāpat pētījumā ar veselām personām VNTR polimorfisms nebija saistīts ar CRP līmeni (*Eklund et al.*, 2003). Vienā analizē atrasts zemāks CRP un FG līmenis IL-1RN (+2018) C alēles nēsātājiem (*Berger et al.*, 2002). Mancoli u.c. aprakstījuši biežāku VNTR\*2 personām ar augstu CRP (>3 mg/l), tomēr tas bija statistiski nenozīmīgs (p=0,15) rezultāts (*Manzoli et al.*, 1999).

#### *IL-1RN (VNTR) un aterotrombozes/KV notikumu risks*

Nelielā un vienā no pirmajiem pētījumiem VNTR\*2 nebija saistīta ar KSS, salīdzinot ar kontrolgrupu (*Manzoli et al.*, 1999). Šai publikācijā atzīmēts, ka vienīgi jaunu cilvēku apakšgrupā ar MI (<40 gadiem) VNTR\*2 bija biežāka, tomēr novērojums nebija statistiski ticams (p=0,20). Koronārās angiogrāfijas pētījumā novērots, ka VNTR\*2 bija biežāka cilvēkiem ar vienas artērijas slimību, lai gan šās atrades interpretācija attiecībā uz klīniskiem notikumiem un slimības gaitu nav skaidra (*Francis et al.*, 1999). Citā darbā ar līdzīgu dizainu VNTR\*2 un \*3 bija saistītas ar biežāku KSS un pret *Chlamydia pneumoniae* seropozitīviem cilvēkiem arī ar MI risku (*Momiyama et al.*, 2001). KSS biežāk apstiprinājās VNTR\*2 nēsātājiem diabēta slimniekiem, kas bija hospitalizēti ar aizdomām par KSS, bet ne slimniekiem bez CD (*Marculescu et al.*, 2003). Gluži pretēji, biežāka VNTR\*1 ir atrasta slimniekiem ar

ishēmisku insultu (*Seripa et al., 2003*), lai gan jāatceras, ka ishēmiskā insulta patoģenēze (bez aterotrombozes to var izraisīt arī kardioembolija) var atšķirties no KSS notikumu patoģenēzes (to gandrīz vienmēr izraisa pangas ruptūra ar sekojošu trombozi), tādēļ pētījumi ar insulta slimniekiem ir interpretējami piesardzīgi un nevar tikt nepārprotami ekstrapolēti uz KSS. Atlasot un salīdzinot MI un veselo kontroles gadījumus no veselu vīriešu 12 gadus vērotas kohortas, netika atrasta IL-1RN(VNTR) polimorfisma saistība ar MI risku (*Zee et al., 2001*). Nesen publicētā ziņojumā nav konstatēta VNTR un KV notikumu riska saistība personām ar angiogrāfiski apstiprinātu KSS, ņemot vērā arī mijiedarbību ar CMV infekciju (*Rothenbacher et al., 2005*).

#### *IL-1RN (VNTR): kopsavilkums*

Lai gan *in vitro* un *in vivo* dati pārsvarā norāda uz IL-1RN (VNTR)\*2 antiinflammatorisku ietekmi (pārsvarā paaugstinātu IL-1Ra un pazeminātu IL-1 $\beta$  līmeni), tomēr angiogrāfiskie un klīniskie pētījumi vairāk liecina par VNTR\*2 nelabvēlīgu ietekmi uz KSS risku. Jāuzsver, ka vienīgajā prospektīvi krāto datu analīzē polimorfisma ietekme uz MI risku bija neitrāla (*Zee et al., 2001*), kas, iespējams, ir pašreiz ticamākais variants.

## 2.10. Darba aktualitāte un novitāte

### Kopsavilkumā varam secināt, ka

- 1) KSS sākotnējā manifestācija un gaita ir dažāda, un tiešām pastāv gan personas ar stipri nelabvēlīgu slimības gaitu, kam raksturīgi bieži akūti koronāri notikumi, gan personas ar samērā labvēlīgu slimības gaitu, kas noris kā stabila stenokardija bez AKS riska vairāku gadu garumā;
- 2) starp šīm klīniskām grupām pastāv būtiskas bioloģiskas atšķirības, un katrai no tām piemīt raksturīgas aterosklerotiskā bojājuma pazīmes;
- 3) atšķirības starp abām slimnieku grupām nevar skaidrot ar tradicionāliem RF, un nav pilnīgi skaidri veicinošie un protektīvie mehānismi, kas nosaka stabilu un nestablu slimības dabisko gaitu;
- 4) pastāv vairāki norādījumi, ka KSS nestabilas gaitas patoģenēzē būtiska nozīme ir iekaisuma aktivitātei, kas, ņemot vērā pašreiz dominējošo priekšstatu par pangas destabilizācijas mehānismiem, ir teorētiski labi pamatots modelis;
- 5) IL-1 $\beta$ , IL-1Ra un IL-6 ir ļoti svarīgi šā iekaisuma mediatoru, un to līmenis ir saistīts ar AKS;
- 6) lai gan šo IL polimorfismiem ir meklēta saistība ar dažādiem iekaisuma marķieriem un aterotrombotiskiem notikumiem, līdz šim neviena IL ģenētiskā variācija nav pētīta KSS klīniskās gaitas aspektā.

Laikā, kad tika sākts šis darbs, zinātniskajā literatūrā informācija par IL ģenētisko polimorfismu saistību ar KSS un/vai tās dažādām izpausmēm bija ļoti skopa. Vairumā pētījumu bija analizēta to iespējamā saistība ar atsevišķiem KSS riska surogātmarķieriem (iekaisuma marķieri CRP, FG un artēriju sklerozes marķieris IMT). Gandrīz visi darbi, kuros analizēts aterotrombozes risks, publicēti pēdējos piecos gados, kas apstiprina izvēlētas tēmas aktualitāti. Tomēr jāuzsver, ka arī šajās publikācijās nav pievērsta uzmanība polimorfismu saistībai ar KSS *klīnisko gaitu*. Tāpēc *pirmā un būtiskākā darba novitāte* ir IL ģenētisko variāciju salīdzināšana starp KSS slimnieku *apakšgrupām ar krasi atšķirīgu slimības norisi*.

*Otrkārt*, mūsu darbā analizēti ne tikai individuāli polimorfismi, bet arī IL-6 promotora haplotipi. Līdz šim literatūrā IL-6 haplotipi aprakstīti tikai nelielām veselu cilvēku un slimnieku grupām, tomēr nevienā publikācijā nav tikusi pievērsta uzmanība KSS klīniskās gaitas aspektam.

### **3. Darba mērķis**

Noskaidrot, vai IL ģenētiskās variācijas ietekmē KSS klīnisko gaitu.

### **4. Darba uzdevumi**

1. Salīdzināt IL-1 $\beta$ , IL-1Ra un IL-6 ģenētisko variāciju prevalenci slimniekiem ar stabilu un nestabilu KSS sākotnējo gaitu.
2. Analizēt, vai pastāv šo ģenētisko variāciju saistība ar citiem klīniskiem kritērijiem - MI risku un vecumu, kad attīstījās pirmie KSS simptomi vai pirmais MI.
3. Analizēt IL-1 $\beta$ , IL-1Ra un IL-6 ģenētisko variāciju saikni ar angiogrāfiskām vainagartēriju bojājuma pazīmēm - aterosklerotisku vainagartēriju slimību un vainagartēriju totālu oklūziju.
4. Noskaidrot IL ģenētisko variāciju ietekmi uz iekaisuma aktivitāti, analizējot to saistību ar sensitīvā iekaisuma marķiera - C reaktīvā proteīna - līmeni.

## 5. Darba metodes

Zinātniskais darbs tika veikts Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Kardioloģijas centrā sadarbībā ar Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centru (BMC, Dr. biol. Normunds Līcis). No 2000. līdz 2004. gadam pētījuma datubāzē tika iekļauts 970 cilvēku, par kuriem bija apkopota detalizēta medicīniskā informācija. 686 personām veiktas arī DNS analīzes un noteiktas pētāmās ģenētiskās variācijas: IL-1B (+3954) C/T, IL-1B (-511) C/T, IL-1RN (VNTR), IL-6 (-596) G/A, IL-6 (-572) G/C, IL-6 (-373) AnTn un IL-6 (-174) G/C polimorfismi, kā arī IL-6 haplotipi. Darbā tiek aplūkoti šīs 686 personu grupas un dažādu tās apakšgrupu analīžu rezultāti.

### 5.1. Pētījuma dizains un kopējās slimnieku grupas atlases principi

Pētījumā tika iekļauti slimnieki, kas tika stacionēti Latvijas Kardioloģijas centrā, lai veiktu vainagartēriju angiogrāfiju (koronarogrāfiju), lai precīzi noskaidrotu aterosklerotiska bojājuma esamību un pakāpi vainagartērijās, kas mazinātu citu koronāra rakstura sāpju (piemēram, miokarda tiltiņa vai mikrovaskulāras ishēmijas) vai nekoronāru cēloņu ietekmi uz rezultātiem. Tika izmantots vienmomenta (*cross-sectional*) pētījuma dizains, kura ietvaros bija iespējams veikt arī retrospektīvas datu analīzes. Pētījumu apstiprināja Latvijas Medicīnas akadēmijas (Rīgas Stradiņa universitātes) ētikas komiteja.

Slimnieku iekļaušanas kritēriji:

- vecums  $\leq 70$  gadu;
- KSS raksturīga klīniskā aina;
- stacionārā tiek plānota un veikta koronārā angiogrāfija;
- slimnieka rakstveida piekrišana līdzdalībai pētījumā.

Izslēgšanas kritēriji:

- iepriekš veikta koronārā revaskularizācija (PTCA un/vai CABG);
- slimnieka nevēlēšanās piedalīties pētījumā.

Vecums līdz 70 gadiem par atlases kritēriju tika izmantots divu apsvērumu dēļ. Pirmkārt, ģenētisko faktoru ietekme uz KSS attīstību līdz ar vecumu mazinās, tādēļ

nozīmīgas saistības ar ģenētiskajiem faktoriem ir vairāk gaidāmas un aktuālas tieši jaunākiem cilvēkiem. Otrkārt, KSS gaitas analīzei svarīgi ir anamnētiskie dati, kas lielā mērā tiek iegūti no paša slimnieka, un šās informācijas precizitāte veciem cilvēkiem ir sliktāka. Pētījumā netika iekļautas personas ar revaskularizāciju anamnēzē, jo šīs procedūras var ietekmēt slimības klīnisko gaitu, piemēram, kritiskas stenozes angioplastija mazina tās okludēšanās varbūtību, kas apgrūtinātu slimības dabiskās gaitas interpretāciju.

## **5.2. *Apkopotā informācija par fenotipu***

Par visiem slimniekiem tika iegūta detalizēta fenotipiskā informācija, kā arī veiktas laboratoriskās un ģenētisko polimorfismu analīzes. Tika reģistrēti konvencionālie riska faktori: vecums, dzimums, informācija par smēķēšanas statusu (nesmēķētājs, aktīvs vai izbijis smēķētājs, ja atmetis pirms >1 mēneša), arteriālo hipertensiju, cukura diabētu un tā tipu, kā arī par agrīnu miokarda infarktu vai pēkšņu kardiālu nāvi ģimenes anamnēzē pirmās pakāpes radniekiem (tēvam vai brālim pirms 55 gadu vecuma un mātei vai mātai pirms 65 gadu vecuma). Ļoti rūpīgi tika apkopota informācija par KSS klīnisko gaitu: vecums, kad slimnieks ievērojis pirmos simptomus; pirmās manifestācijas veids (slodzes vai miera stenokardija, miokarda infarkts utt.); vai ir bijuši MI un to skaits; vecums, kad attīstījies pirmais MI; laiks no pirmo simptomu sākuma līdz pirmajam MI vai nestabilai stenokardijai (NSt); kopējais KSS anamnēzes ilgums; laiks kopš pēdējā MI vai NSt (būtisks iekaisuma marķieru analīzei). MI diagnoze tika atzīmēta, ja tāda tika minēta iepriekšējos slimnīcu izrakstos.

Lai uzlabotu datu ticamību, katrā atbildē uz jautājumiem īpaši tika atzīmēts, ja informācija nebija pārliecinoša. Tika atzīmēta farmakoterapija (aspirīns, tienopiridīni, statīni, angiotensīnu konvertējošā enzīma inhibitori (AKEI), bēta blokatori (BB), kalcija antagonisti, nitrāti), ko slimnieks bija lietojis regulāri pēdējā mēneša laikā, kā arī stacionārā nozīmētā terapija. Slimniekiem noteica svaru un augumu un aprēķināja ķermeņa masas indeksu.

No *laboratoriskajiem* raksturlielumiem serumā tika noteikts lipīdu (KH, ABLH, TG, ZBLH) un glikozes līmenis (reģistrējot arī informāciju, cik stundas pēc pēdējās maltītes ņemti asins paraugi). Citrētā plazmā tika noteikts fibrinogēna līmenis un EDTA asinīs – hemoglobīns un asins šūnu (eritrocītu, leukocītu un trombocītu) skaits, kā arī atsevišķi eritrocītu grimšanas ātrums.

Pirms angiogrāfijas slimniekiem EDTA vakutaineros tika ņemti arī *plazmas paraugi*, kas tūlīt pēc separācijas ar centrifūgu tika sasaldēti un glabāti -20 °C temperatūrā. Atkausētos paraugos 14 dienu laikā tika noteikts *augstas sensitivitātes CRP* (hs-CRP) ar imūnefektometrijas metodi (reaģents *N High Sensitivity CRP*, Dade Behring, Marburga, Vācija; nefelometrs BNA/BN 100, Behring, Vācija). Noteikšanas diapazons ar šo metodi bija 0,20 – 220 mg/l, un rezultātu variācijas koeficients bija 5,2%.

Visiem slimniekiem tika veikta *koronarogrāfija*, un tās dati reģistrēti pētījuma anketā, atzīmējot galveno vainagartēriju (kreisās vainagartērijas stumbrs, kreisā priekšējā lejpējā, kreisā apleicošā un labā artērija) un to lielāko zaru (intermediālais zars, diagonālie, marginālie, mugurējais laterālais un mugurējais lejpējais zars) bojājumu pakāpi procentos atbilstoši invazīvā kardiologa vērtējumam. Par pārliecinošu vainagartēriju slimības kritēriju tika uzskatīta stenoze, kas kompromitēja vainagartērijas vai nozīmīga zara lumenu par >50%. Gadījumos, kad šāda stenoze netika atrasta, tika speciāli atzīmēta difūzas aterosklerozes vai sākotnēju aterosklerotisku bojājumu esamība.

### **5.3. Analizējamo slimnieku apakšgrupu atlases un izslēgšanas kritēriji**

Darba primāriem un sekundāriem uzdevumiem nepieciešamām datu apstrādes analīzēm (piemēram, polimorfismu saistībai ar sākotnējo KSS gaitu, CRP līmeni utml.) no pētījuma datubāzes tika atlasītas dažādas slimnieku apakšgrupas, kuru dati atbilda katra konkrētā jautājuma noskaidrošanai. Turpmāk aprakstīti šo apakšgrupu atlases kritēriji.

#### Klīnisko un angiogrāfisko kritēriju analīze

- Stabila un nestabila KSS sākotnējā gaita (tikai slimnieki ar precīzi zināmu anamnēzi):
  - *stabilas* gaitas grupa - slimnieki ar stabilu stenokardiju bez MI un ar kopējo KSS anamnēzi vismaz vienu gadu, kuriem koronarogrāfijā tika konstatēta pārliecinoši nozīmīga stenoze (KAS >75%, proti, tādas pakāpes stenoze, kas var būt stenokardijas klīnikas cēlonis) un nav nevienas vainagartērijas oklūzijas (kas varētu norādīt uz iespējamu asimptomātiski pārciestu MI);



- *nestabilas* gaitas grupa – slimnieki, kam MI attīstījās viena gada laikā kopš pirmo KSS simptomu sākuma vai MI bija pirmā slimības izpausme un angiogrāfiski tika apstiprināta KAS (stenoze >50%);
- *veselo kontrolgrupa* – personas, kam angiogrāfiski nebija nekādas norādes par vainagartēriju aterosklerozi (arī pangas/stenozes <50%) un nav bijis MI vai aizdomas par to.
- Laiks līdz pirmajam MI:
  - pierādīta vainagartērijas stenoze >50%;
  - skaidri zināma KSS sākotnējā gaita – cik ilgs laiks pagājis līdz pirmā MI attīstībai (<1 diena, <1 nedēļa, <1 mēnesis, <1 gads vai ≥1 gads), vai arī MI nav bijis.
- Vainagartēriju oklūzija:
  - visas pētījuma personas;
  - apakšanalīzes atkarā no MI anamnēzes (ir vai nav bijis MI) visā grupā un tikai slimniekiem ar vainagartēriju stenozi >50%.
- Personas ar un bez KSS:
  - KSS grupa – slimnieki ar pierādītu stenozi >50%;
  - kontrolgrupa - slimnieki bez jebkādiem angiogrāfiskiem norādījumiem par vainagartēriju bojājumu;
  - netika iekļauti slimnieki, kam angiogrāfiski bija aizdomas par pangām, kas stenozēja lūmenu par mazāk nekā 50%.
- Vecums, kad pirmo reizi klīniski manifestējās KSS:
  - slimnieki ar vainagartēriju stenozi >50%;
  - skaidri zināms vecums, kad radušies pirmie KSS simptomi;
  - kopējais KSS anamnēzes ilgums <20 gadu.
- Vecums, kad attīstījies pirmais MI:
  - slimnieki ar angiogrāfiski apstiprinātu vainagartēriju stenozi >50%;
  - slimnieki ar nešaubīgi zināmu MI anamnēzē un precīzi zināmu vecumu, kad attīstījies pirmais MI;
  - izslēgtas personas ar šaubīgu MI anamnēzi vai pirmā MI attīstīšanās vecumu.

- Slimnieki ar MI:
  - analizēta visa slimnieku kopa;
  - MI kritēriji:
    - angiogrāfiski apstiprināta vainagartēriju stenoze >50%;
    - skaidri zināma MI anamnēze.

#### Iekaisuma marķieru analīze

- Pilotanalīze:
  - iekļauti slimnieki ar angiogrāfiski apstiprinātu vainagartēriju stenozi >50%;
  - izslēgšanas kritēriji:
    - CRP līmenis >15 mg/l (n=6), Tā kā tik augsts CRP līmenis var norādīt uz slēptu aktīvu iekaisumslimību (*Ridker, 2001*);
    - Slimnieki ar nesenu notikušu MI vai nestabilu stenokardiju (pēdējo trīs nedēļu laikā; n=16);
    - Zināma hroniska aktīva iekaisumslimība (viens slimnieks ar Hodžkina slimību).
- Pilnas slimnieku kopas analīze:
  - no visiem cilvēkiem, kam bija zināms CRP (n=671), šai datu analīzei tika atlasīti 624 slimnieki;
  - netika iekļauti 47 slimnieki šādu iemeslu dēļ:
    - pēdējo trīs nedēļu laikā pārciests MI (n=33);
    - aktīva iekaisumslimība (n=4);
    - sevišķi augsts CRP līmenis, definēts kā >3 SD (26,4 mg/l; n=10).

#### **5.4. Biomolekulārās analīzes**

Genomiskās DNS iegūšana no asins paraugiem un genotipēšana tika veikta Latvijas Universitātes Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā. Personāls, kurš veica DNS analīzes, nezināja klīnisko informāciju par slimniekiem. DNS tika genotipēta, izmantojot uz PCR balstītu metodi un negatīvā kontrole (reakcijas maisījums bez DNS) tika iekļauta katrā eksperimentā. Reakcijas rezultāti tika analizēti elektroforētiski 2% agarozes gelā, kas saturēja etīdija bromīdu (10 µg/ml), un tās produkti, izņemot IL-1RN VNTR gadījumu, tika attīrīti ar DNS ekstrakcijas komplektu (*DNA extraction kit*;

*Fermentas*, Lietuva). IL-1RN VNTR polimorfisms tika noteikts tieši, balstoties uz elektroforēzes datiem par PCR produktu garumu. Pārējo IL-1 grupas polimorfismu noteikšanai PCR produkti pēc to attīrīšanas tika šķelti ar specifiskām restrikcijas endonukleāzēm un šķelšanas produkti analizēti elektroforētiski 2% agarozē. IL-6 ģenētisko variāciju skrīnings tika veikts ar sekvencēšanu.

#### *Interleikīna-6 polimorfismu un haplotipu noteikšanas metodoloģija*

Pirmajā posmā, lai iegūtu eksperimentāli pamatotu informāciju par alēļu asociācijām Latvijā, tiešā veidā tika noteikti haplotipi aptuveni 100 paraugiem. Lai to izdarītu, vispirms tika iegūta genomisko PCR produktu sekvenca. Lai noskaidrotu parauga haplotipu kompozīciju heterozigotiskiem paraugiem, kam haplotipus nevarēja skaidri noteikt, genomiskās PCR produkti tika klonēti un iegūtie kloni sekvencēti. Alternatīvi, individuālie haplotipi tika noteikti, balstoties uz alēļu specifiskām PCR un sekojošu sekvencēšanu. Otrajā posmā par pētījuma kopas haplotipiem tika secināts no genomiskās PCR produktu sekvences. Gadījumos, kad par paraugu haplotipu kompozīciju nevarēja spriest, balstoties uz sākotnējā skrīninga datiem, tika lietota iepriekš aprakstītā klonēšanas vai alēļspecifiskās PCR metode. Visbeidzot, 45 nejauši atlasītiem paraugiem haplotipu datu precizitāte tika pārbaudīta, atdalot un sekvencējot individuālus haplotipus.

#### *Genomiskā PCR*

Lai amplificētu IL-6 531-bp fragmentu, kas ietver polimorfisko promotora apvidu, tika izmantoti oligonukleotīdi 5' GGA GTC ACA CAC TCC ACC T (DF20 praimeris; Fishman et al., 1998) un 5' GTG GGG CTG ATT GGA AAC C (IL-6/H3 praimeris). PCR tika veikta 75 mM Tris-HCl (pH 8,8), 20mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1% (v/v) Tween 20 buferī ar Taq DNS polimerāzi (*Fermentas*, Lietuva) šādā režīmā: (i) sākotnējā denaturācija 3 minūtes 94 °C, kam sekoja (ii) 30 cikli – 94 °C 30 sekundes, 60 °C 30 sekundes un 72 °C 45 sekundes, kā arī (iii) noslēguma solis – 72 °C 5 minūtes.

IL-1 gēnu fragmentu PCR režīms bija identisks, izņemot anīlinga temperatūru (55°C). Amplifikācijai izmantoto oligonukleotīdu secība norādīta turpmāk atbilstošajās nodaļās.

### *IL-6 PCR produktu klonēšana*

Produkti tika klonēti ar InsT/Aclone™ PCR *Product Cloning Kit* (Fermentas, Lietuva) palīdzību saskaņā ar ražotāja instrukcijām un vismaz viens klons no katra parauga tika sekvenčēts.

### *IL-6 alēļu specifiskā PCR*

Alēļu specifiskai PCR tika izmantots vai nu DF20 vai IL-6/H3 praimeris, kombinācijā ar vienu no alēļu specifiskiem oligonukleotīdiem (Terry *et al.*, 2000). PCR apstākļi bija šādi: (i) sākotnējās denaturācijas solis 3 minūtes pie 94 °C, kam sekoja (ii) 5 cikli pie 94 °C 45 sekundes, tad 70 °C 50 sekundes un 72 °C 60 sekundes; (iii) 5 cikli pie 94 °C 45 sekundes, 67 °C 50 sekundes un 72 °C 60 sekundes; (iv) 20 cikli pie 94 °C 45 sekundes, 60 °C 50 sekundes un 72 °C 60 sekundes, kā arī (v) noslēguma sintēze pie 72 °C piecas minūtes.

### *IL-6 promotora sekvenčēšana*

Sekvenčēšana tika veikta, izmantojot BigDye™ *Termination Cycle Sequencing Ready Reaction DNA sequencing kit* (Applied Biosystems, ASV) un rezultāti tika apstrādāti ar *ABI PRISM 3100 Genetic Analyser* (Applied Biosystems, ASV). Sekvenčēšanas reakcijām parasti tika izmantots DF20 praimeris. Paraugi, kas bija A<sub>n</sub>T<sub>n</sub> heterozigoti, tika sekvenčēti arī no otra gala, ar IL-6/H3 praimeru.

### *IL-1 ģenētisko variāciju analīze*

#### *IL-1RN (VNTR)*

Polimorfiskais rajons tika amplificēts ar 5' CTC AGC AAC ACT CCT AT un 5' TCC TGG TCT GCA GGT AA praimeru palīdzību, un PCR produktu garums tika analizēts elektroforētiski. Alēles tika kodētas atbilstoši pastāvošai nomenklatūrai: 1. alēle = 4 atkārtojumi (410 bp PCR produkts); 2. alēle = 2 atkārtojumi (240 bp); 3. alēle = 5 atkārtojumi (500 bp); 4. alēle = 3 atkārtojumi (325 bp).

### *IL-1B (-511) C/T*

IL-1B promotora apvidus (-511) polimorfisma C alēle veido *AvaI* restrikcijas saitu. Šo SNP ietverošais fragments tika amplificēts ar 5' TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC un 5' GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT praimeriem. Reakcijas produkti pēc attīrīšanas tika apstrādāti ar *AvaI* restrikcijas endonukleāzi, kas C alēles gadījumā sašķēl 305 bp garo PCR produktu 190 bp un 115 bp fragmentos.

### *IL-1B (+3954) C/T*

IL-1B gēna 5. eksona (+3954) polimorfisma C alēle rada *TaqI* restrikcijas saitu. Polimorfismu ietverošais apvidus (250 bp) tika amplificēts ar 5' GTT GTC ATC AGA CTT TGA CC un 5' TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA praimeru palīdzību. Veicot sekojošu PCR produktu apstrādi ar *TaqI* restriktāzi, C alēles gadījumā veidojas 136 bp un 114 bp fragmenti, bet T alēli saturošie produkti netiek šķelti.

## **5.5. Statistiskās apstrādes metodes**

Visas statistiskās kalkulācijas (*Daly, Bourke & McGilvray, 1991; Field, 2000; Petrie & Sabin, 2000; Pallant, 2001*) tika veiktas ar SPSS programmu (12.0 versiju), izņemot  $\chi^2$  atbilstības testu diviem polimorfismiem, kad tika izmantots interaktīvs internetā pieejams kalkulators (sīkāk sk. *Genotipu biežuma atbilstība Hārdija-Veinberga līdzsvaram*). Atbilstoši vispārpieņemtiem principiem p vērtība 0,05 tika uzskatīta par divpusējo testu rezultātu statistiskās ticamības sliekšni.

### *Mainīgo raksturojums*

Kvantitatīvie mainīgie tika aprakstīti ar aritmētisko vidējo un standarta deviāciju, izņemot gadījumus, kad to sadalījums krasi atšķīrās no normālā (piemēram, CRP), un tādēļ tika aprēķināta mediānā vērtība un standartklūda vai starpkvartīļu intervāls. Kategoriskie jeb kvalitatīvie mainīgie tika raksturoti ar procentuālo proporciju. Mainīgie, kuru dispersija krasi atšķīrās no normālās (vērtējot ar histogrammām un Kolmogorova-Smirnova testu), tika transformēti tuvinot dispersiju normālai, un tālākajos aprēķinos tika izmantotas tikai transformētās vērtības. Piemēram, CRP tika transformēts logaritmiski (log-CRP). Labākas datu uzskatāmības nolūkos, atsevišķos gadījumos rezultātos tika uzrādītas no log-CRP atgriezeniski retransformētās vai mediānās CRP vērtības.

### *Vienmainīgās analīzes (UVA)*

Normāli sadalīto *kvantitatīvo mainīgo* salīdzinājumi tika veikti ar Stjudenta t-testu starp divām grupām vai ANOVA metodi starp trīs un vairāk grupām. Multiplu salīdzinājumu korekcijai *post hoc* analīzē, lai mazinātu statistiskās  $\alpha$  kļūdas iespējamību, tika veikta korekcija ar Bonferoni (*Bonferoni*) vai Takija (*Tukey*) testu. Saistība starp diviem kvantitatīvajiem mainīgajiem, kā arī starp ģenētisko variāciju grupām un kvantitatīvo mainīgo tika analizēta ar lineārās regresijas metodi. *Kategoriskie mainīgie* tika salīdzināti ar Pīrsona (*Pearson*)  $\chi^2$  testu vai Fišera (*Fisher*) eksakto testu atbilstoši testu lietošanas nosacījumiem (Fišera tests tika izmantots 2x2 tabulām, ja gaidāmais gadījumu skaits katrā kategorijā bija mazāks par pieciem). Analizējot genotipu saistību ar kategoriskajiem mainīgajiem, gēnu devas efekta (GDE) modelī (ar trim genotipu variantiem – diviem homozigotu un vienu heterozigotu) tika aprēķināta Spīrmana (*Spearman*) korelācija (un tās  $r$  (ro) koeficients), kas tiek izmantota ordinālo mainīgo lineāras saistības analīzei un atspoguļo “gēna devas” efektu. Dominantajos modeļos (salīdzinot vismaz vienas alēles nēsātājus ar tiem, kam nav šīs alēles) tika analizēta atšķirība starp divām grupām ar Pīrsona  $\chi^2$  testu vai Fišera eksakto testu. Gadījumos, kad  $\chi^2$  Pīrsona tests tika izmantots 2x2 tabulām, tika veikta kontinuitātes korekcija pēc Jeitsa (*Yates*) metodes un aprēķināta arī izredžu attiecība (*Odds ratio*, OR).

### *Daudzmainīgās analīzes (MVA)*

Lai noteiktu ģenētisko faktoru ietekmi uz analizējamiem parametriem, ņemot vērā arī zināmos fenotipiskos faktorus, tika veiktas daudzmainīgās analīzes (*multivariate analyses*, MVA). Kvantitatīvo mainīgo analīzei tika izmantota multiplā lineārā regresija un ANCOVA metode. Kategoriskie mainīgie tika analizēti ar loģistiskās regresijas analīzi, kurā tika iegūta  $\text{Exp}(\beta)$  vērtība, kas raksturo koriģēto ģenētiskā faktora OR.

### *MVA modeļi*

Ar atpakaļejošās (*backward*) atlasē metodi tika noskaidroti mainīgie, kas statistiski ticami korelēja ar atkarīgo mainīgo, kad tika analizēta saistība ar iekaisuma marķieriem pilotanalīzē. Nozīmīgie mainīgie tika iekļauti modelī kopā ar ģenētiskajiem

faktoriem attiecīgajos lineārās vai loģistiskās regresijas modeļos. Kvantitatīvajiem mainīgajiem, izmantojot ANCOVA metodi (SPSS programmas *general linear model*, GLM, opcija), tika aprēķināti koriģētie atkarīgā mainīgā vidējie lielumi.

Gadījumos, kad nozīmīgie neģenētiskie faktori bija zināmi jau no literatūras, modeļi tika veidoti ar ievades (*enter*) pieeju, proti, neveicot neģenētisko neatkarīgo faktoru selekciju. Šāda pieeja tika izmantota klīnisko un angiogrāfisko kritēriju analīzei - visos multiplās (gan lineārās, gan loģistiskās) regresijas modeļos par neģenētiskiem mainīgiem faktoriem tika ievadīti visi konvencionālie riska faktori: vecums, dzimums, holesterīna līmenis, cukura diabēts, arteriālā hipertensija, smēķēšana un pozitīva ģimenes anamnēze (agrīns MI pirmās pakāpes radiniekiem).

#### *Gēnu devas efekta vērtēšana*

Lai noteiktu alēļu vai haplotipu skaita ("gēna devas") ietekmi uz kvantitatīviem un kvalitatīviem parametriem gēnu devas efekta (GDE) modelī, genotipi tika kodēti kā 0 (nav nevienas alēles vai haplotipa), 1 (viena alēle vai haplotips, proti, heterozigoti) un 2 (abas alēlēs vai haplotipi, proti, homozigoti). Pārējos (dihotomiskos) gadījumos genotipi tika kodēti kā 0 un 1.

#### *Genotipu biežuma atbilstība Hārdija-Veinberga līdzsvaram*

Novēroto genotipu atbilstība Hārdija-Veinberga (H-W) līdzsvaram (*Hardy-Weinberg equilibrium*) tika pārbaudīta ar  $\chi^2$  atbilstības testu (*Chi-Square Goodness of Fit test*), kurā tika salīdzināts novēroto genotipu biežums ar gaidāmo genotipu biežumu. Gaidāmais genotipu biežums tika aprēķināts pēc novēroto alēļu biežuma un to kombināciju varbūtības. Bialēliskiem polimorfismiem gaidāmais genotipu biežums tika aprēķināts pēc formulas:  $(p \times q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$ , kur p ir izplatītākās alēles sastopamības biežums, q – retākās alēles sastopamības biežums un pp, pq un qq abu alēļu attiecīgās genotipus veidojošās kombinācijas. Polimorfismiem ar vairāk nekā divām alēlēm gaidāmais genotipu sadalījums tika aprēķināts pēc attiecīgi koriģētas līdzīgas formulas, piemēram, IL-1RN (VNTR) polimorfismam ar četrām alēlēm (ar alēļu biežumu attiecīgi p, q, r un s):  $(p \times q \times r \times s)^2 = p^2 + 2pq + 2pr + 2ps + q^2 + 2qr + \dots + s^2$ .

Polimorfismiem ar divām alēlēm šai nolūka tika izmanota SPSS programma. Tā kā polimorfismiem ar vairāk nekā divām alēlēm (IL-1RN (VNTR) un IL-6 (-373)

AnTn) daži teorētiski iespējamie reti genotipa varianti paraugā netika novēroti, ar SPSS programmu nebija iespējams pārbaudīt šo variāciju genotipu atbilstību H-W līdzsvaram. Tādēļ šo abu polimorfismu gadījumā tika izmantots internetā pieejams interaktīvs  $\chi^2$  atbilstības testa kalkulators (*GraphPad Software*, 2005). Abu metožu kontroles nolūkā, ar kalkulatoru pārbaudot iegūtos rezultātus arī bialēliskiem polimorfismiem, tika iegūti analogiski rezultāti kā ar SPSS programmu.

## **6. Rezultāti**

### ***6.1. Pētījuma grupas fenotipiskais un ģenētiskais raksturojums***

Visas pētījuma personu kopas (n=686) fenotipiskais raksturojums (demogrāfiskie un riska faktori, laboratoriskie riska faktoru un iekaisuma marķieru raksturlielumi, prehospitalā terapija, koronārā anamnēze un angiogrāfiskā atrade) apkopots 6.1.1. tabulā. Jāatzīmē, ka pārliecinoša KSS (definējot pēc angiogrāfiskās atrades kā vismaz 50% stenozi vismaz vienā vainagartērijā) tika konstatēta 83,2% (n=571) slimnieku, kas tika izmantots arī par atlases kritēriju atsevišķu apakšgrupu padziļinātā izpētē. Visi analizētie polimorfismi bija Hārdija–Veinberga līdzsvarā (sk 6.1.2. tabulu). Pretstatā vairumam citu personu kopu, kurās IL-6 (-174) G alēle ir izplatītākā (*Humphries et al.*, 2001; *Jones et al.*, 2001; *Margaglione et al.*, 2001; *Vickers et al.*, 2002; *Bennet et al.*, 2003; *Chapman et al.*, 2003 u.c.), mūsu analizētajos paraugos biežāk sastopama bija IL-6 (-174) C alēle (50,1%). Veicot IL-6 gēna promotora apvidus secības analīzi, tika identificēti deviņi haplotipu varianti (sk 6.1.3. tabulu), no kuriem pieci bija plaši izplatīti (>1%), bet pārējie četri - reti (novēroti tikai 21 personai). Haplotipu prevalence bija līdzīga kā iepriekš literatūrā minētajos ziņojumos (*Terry et al.*, 2000; *Acalovshi et al.*, 2003; *Kelberman et al.*, 2004a), izņemot biežāk novēroto pirmo haplotipa variantu, kurā ietilpst arī (-174) C alēle. Pie tam, tika konstatēts jauns haplotipa variants (Hap\*6; sk. 6.3. tabulu), kas iepriekš nav aprakstīts, bet mūsu paraugos bija visizplatītākais no retajiem haplotipiem.



**6.1.1. tabula. Pētījuma personu kopas (n=686) neģenētisko parametru raksturojums**

**Riska faktori**

Vecums (vidējais, SD)	55,8±8,2
Vīrieši (n, %)	519 (75,7)
KH, mmol/l (vidējais, SD)	5,5±1,3
<5 mmol/l (n, %)	228 (33,2)
5,0-7,0 mmol/l (n, %)	376 (54,8)
>7,0 mmol/l (n, %)	82 (12,0)
ABLH, mmol/l (vidējais, SD)	1,4±0,7
TG, mmol/l (vidējais, SD)	2,2±1,5
ZBLH, mmol/l (vidējais, SD)	3,2±1,1
Arteriālā hipertensija (n, %)	431 (62,8)
Cukura diabēts (n, %)	66 (9,6)
ĶMI, kg x m <sup>-2</sup> (vidējais, SD)	28,4±4,3
Adipozitāte (ĶMI >30 kg x m <sup>-2</sup> ) (n, %)	208 (30,3)
Smēķēšanas statuss	
Aktīvs smēķētājs (n, %)	203 (29,6)
Izbijis smēķētājs (n, %)	242 (35,3)
Nesmēķētājs (n, %)	241 (35,1)
Agrīns MI ģimenē (n, %)	134 (19,5)

**Iekaisuma marķieri**

CRP, mg/l (mediānais, SK)	1,8 (0,3)
CRP >3 mg/l (n, %)	65 (9,5)
FG, g/L (vidējais, SD)	3,3±1,0

**KSS raksturojums**

Angiogrāfiski apstiprināta KSS (n, %)	571 (83,2)
Vidējais KSS ilgums (gados)	
<1 gads (n, %)	287 (50,3)
1-5 gadi (n, %)	179 (31,3)
6-10 gadi (n, %)	64 (11,2)
>10 gadi (n, %)	41 (7,2)
Miokarda infarkts anamnēzē	421 (61,4)

**Prehospitalā terapija**

Aspirīns (n, %)	600 (87,5)
Klopidogrels (n, %)	53 (7,7)
Statīni (n, %)	286 (41,7)
AKEI (n, %)	387 (56,4)
BB (n, %)	541 (78,9)
Kalcija antagonisti (n, %)	186 (27,1)
Nitrāti (n, %)	438 (63,9)

**6.1.2. tabula. Pētījuma kopas analizēto ģenētisko variāciju raksturojums**

Polimorfisms	Alēle	Prevalence (n)	Genotips	Prevalence (n)	P vērtība (H-W)*
IL-1B (-511)	C	0,673 (923)	CC	0,448 (307)	0,830
	T	0,327 (449)	CT	0,450 (309)	
			TT	0,102 (70)	
IL-1B (+3954)	C	0,758 (1040)	CC	0,583 (400)	0,501
	T	0,242 (332)	CT	0,350 (240)	
			TT	0,067 (46)	
IL-1RN (VNTR)	1	0,691 (948)	11	0,474 (325)	0,527
	2	0,288 (395)	12	0,413 (283)	
	3	0,020 (28)	13	0,020 (14)	
	4	0,001 (1)	14	0,002 (1)	
			22	0,071 (49)	
			23	0,020 (14)	
IL-6 (-596)	G	0,502 (689)	GG	0,233 (160)	0,139
	A	0,498 (683)	AG	0,538 (369)	
			AA	0,229 (157)	
IL-6 (-373)	8/12	0,494 (678)	11	0,226 (155)	0,605
	9/11	0,209 (287)	12	0,212 (145)	
	10/11	0,152 (209)	13	0,152 (104)	
	10/10	0,138 (189)	14	0,163 (112)	
	9/12	0,007 (9)	15	0,010 (7)	
			22	0,045 (31)	
			23	0,071 (49)	
			24	0,044 (30)	
			25	0,002 (1)	
			33	0,023 (16)	
			34	0,035 (24)	
			44	0,016 (11)	
IL-6 (-572)	G	0,939 (1288)	GG	0,882 (605)	0,983
	C	0,061 (84)	GC	0,114 (78)	
			CC	0,004 (3)	
IL-6 (-174)	G	0,499 (684)	GG	0,230 (158)	0,162
	C	0,501 (688)	GC	0,537 (368)	
			CC	0,233 (160)	

\* Salīdzinot ar sagaidāmajiem genotipiem atbilstoši Hardija-Veinberga līdzsvaram.

**6.1.3. tabula. Interleikīna-6 gēna promotora rajona haplotipu raksturojums pētījuma kopā**

<b>Nr.</b>	<b>Haplotips*</b>	<b>Prevalence (n)</b>	<b>Haplotipu kombinācijas</b>	<b>Prevalence (n)</b>
1	AG8/12C	0,493 (677)	11	0,224 (154)
2	GG9/11G	0,201 (276)	12	0,203 (139)
3	GG10/11G	0,152 (209)	13	0,152 (104)
4	GG10/10G	0,077 (105)	14	0,089 (61)
5	GC10/10G	0,061 (84)	15	0,074 (51)
6	GG9/12G	0,007 (9)	16	0,010 (7)
7	GG9/11C	0,004 (6)	17	0,006 (4)
8	AG9/11C	0,004 (5)	18	0,003 (2)
9	AG8/12G	0,001 (1)	19	0,001 (1)
			22	0,041 (28)
			23	0,069 (47)
			24	0,031 (21)
			25	0,013 (9)
			26	0,001 (1)
			27	0,001 (1)
			28	0,003 (2)
			33	0,023 (16)
			34	0,013 (9)
			35	0,022 (15)
			37	0,001 (1)
			38	0,001 (1)
			44	0,007 (5)
			45	0,004 (3)
			46	0,001 (1)
			55	0,004 (3)

\* Polimorfismu secība: (-596) G/A, (-572) G/C, (-373) AnTn, (-174) G/C

## **6.2. Interleikīnu ģenētisko variāciju saistība ar KSS klīniskiem un angiogrāfiskiem kritērijiem**

### **6.2.1. Slimnieki ar stabilu un nestabilu KSS sākotnējo gaitu**

Analīzes mērķis bija noskaidrot, vai IL ģenētiskajiem polimorfismiem pastāv kāda saistība ar KSS sākotnējo klīnisko gaitu. Proti, vai kāds ģenētiskais faktors varētu veicināt MI attīstību jau agrīnā slimības posmā vai arī gluži pretēji sekmēt labvēlīgu slimības gaitu ar ilgstoši stabilu stenokardiju bez MI riska. Atbilstoši metodoloģijā aprakstītajiem klīniskiem un angiogrāfiskiem kritērijiem, tika atlasītas divas KSS klīniskās apakšgrupas – ar klasisku stabilu vai nestabilu KSS norisi, kā arī kontroles (veselo cilvēku) grupa.

No visiem šai analīzei derīgiem cilvēkiem (n=334; 48,7% visas pētījuma kopas) klasiski stabilas KSS gaitas grupai atbilda 50 slimnieki (15,0%), nestabilas norises kritērijiem - 201 slimnieks (60,2%), bet 83 personām (24,9%) KSS angiogrāfiski netika apstiprināta (sk. 6.2.1. tabulu).

Vērtējot slimnieku anamnēzi, konvencionālos RF un saņemto farmakoterapiju (sk. 6.2.1. tabulu), redzams, ka nestabilās gaitas slimnieku grupa bija par aptuveni trīs gadiem jaunāka nekā stabilo slimnieku grupa, un arī KSS anamnēzes ilgums šiem cilvēkiem bija īsāks. Abi novērojumi bija gaidāmi, jo slimniekiem ar stabilu KSS gaitu parasti paiet ilgāks laiks līdz nonākšanai mediķu redzeslokā tieši slimības relatīvi labdabīgās sākotnējās gaitas dēļ. Tāpat arī izskaidrojams fakts, ka MI grupā KH līmenis bija zemāks, visticamāk, tieši aktīvas statīnterapijas dēļ (51,2% vs. 30,0%, p=0,007) - šie slimnieki ātrāk nonāk stacionārā un biežāk saņem savlaicīgu agresīvu hipolipidemizējošu ārstēšanu.

Nestabilo slimnieku grupā bija vairāk vīriešu (85,1% vs. 64,0% stabilo slimnieku grupā, p=0,001). Citi RF starp abām KSS apakšgrupām statistiski ticami neatšķīrās. Tomēr jāatzīmē, ka stabilās gaitas grupa bija par aptuveni diviem gadiem vecāka, un, lai gan šī atšķirība nebija statistiski ticama (p=0,142), tā ir saprotama – ateromas pakāpeniskas progresēšanas gadījumā pirmā manifestācija gaidāma vēlāk. Veicot MVA ar neģenētiskiem riska faktoriem, tikai arteriālā hipertensija, sieviešu dzimums un holesterīna līmenis bija statistiski ticami saistīti ar stabilu sākotnējo gaitu (sk. 6.2.2. tabulu).

**6.2.1. tabula. Neģenētisko riska faktoru un saņemtās terapijas salīdzinājums starp trim klīniski angiogrāfiskām slimnieku grupām**

	<b>Kontrolgrupa bez KSS (n=83)</b>	<b>Stabilas stenokardijas grupa (n=50)</b>	<b>Nestabilas gaitas grupa (n=201)</b>	<b>p (starp grupām)</b>
Vecums (vidējais±SD)	55,3±9,1	58,3±6,9	55,0±8,7*	0,052
KSS ilgums (gados, vidējais±SD)	-	4,2±3,2	2,6±5,4*	0,131
Vecums, kad attīstījās pirmie KSS simptomi (gados, vidējais±SD)	-	54,2±7,5	52,2±9,1	0,142
RF <sup>‡</sup> skaits (vidējais±SD)	2,3±1,2	2,7±1,1	2,8±1,2 <sup>†</sup>	0,016
KH (mmol/l, vidējais±SD)	5,4±1,2	5,8±1,5	5,3±1,3*	0,025
ĶMI (kg x m <sup>-2</sup> , vidējais±SD)	28,2±4,1	28,2±4,3	28,3±4,5	0,975
CRP (mg/l, mediānais±SK)	1,3±0,5	2,2±0,9 <sup>†</sup>	2,4±0,7 <sup>†</sup>	0,003
FG (vidējais±SD)	3,2±1,7	3,3±1,2	3,2±0,9	0,858
Vīrieši (%)	60,2	64,0	85,1* <sup>†</sup>	<0,001
CD (%)	8,4	12,0	9,0	0,765
Hipertensija (%)	66,3	84,0 <sup>†</sup>	59,2*	0,004
Smēķēšana (%)	45,8	64,0 <sup>†</sup>	76,1 <sup>†</sup>	<0,001
Agrīns MI ģimenē (%)	18,1	20,0	18,9	0,963
Prehospitalā terapija				
Aspirīns (%)	75,9	80,0	89,1 <sup>†</sup>	0,014
Statīni (%)	21,7	30,0	51,2* <sup>†</sup>	<0,001
AKEI (%)	53,0	58,0	58,2	0,713
BB (%)	53,0	76,0 <sup>†</sup>	82,1 <sup>†</sup>	<0,001

\* p<0,05, salīdzinot ar stabilas stenokardijas slimniekiem.

<sup>†</sup> p<0,05, salīdzinot ar kontrolgrupu bez KSS.

<sup>‡</sup> Kategoriskie riska faktori: vecums (>55 gadi sievietei vai >45 gadi vīrietim) saslimšanas brīdī, arteriālā hipertensija, KH >5 mmol/l, CD, smēķēšana, ĶMI >30 kg/m<sup>2</sup>, agrīns MI ģimenē.

**6.2.2.tabula. Neģenētisko riska faktoru saistība ar stabilu, salīdzinot ar nestabilu, KSS gaitu (MVA)**

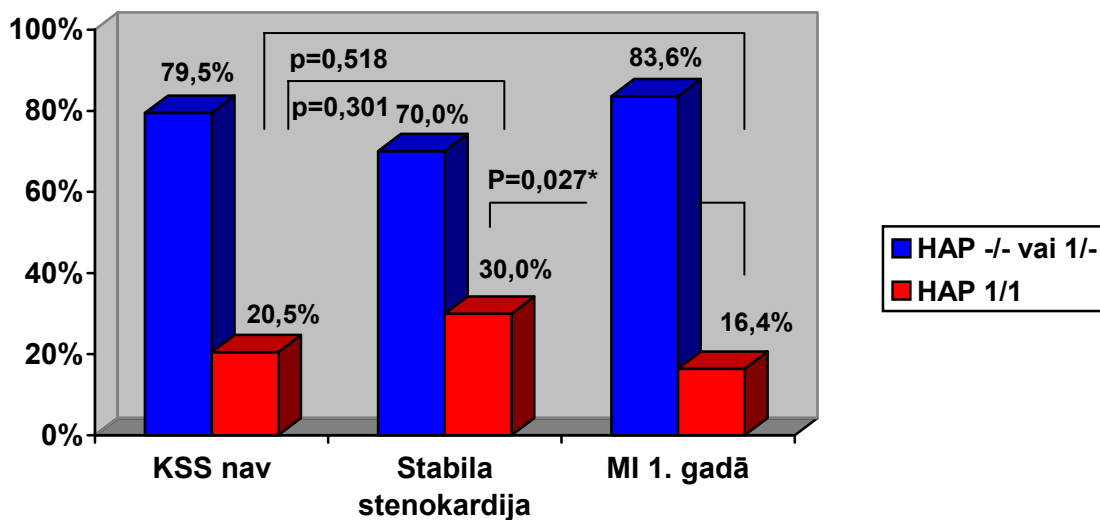
<b>Mainīgais raksturlielums</b>	<b>Exp(β)</b>	<b>p</b>
Konstante	1,35	0,091
Vecums	1,04	0,121
KH līmenis	1,35	0,019
ĶMI	0,93	0,105
Sieviešu dzimums	0,38	0,031
CD	1,24	0,690
Arteriālā hipertensija	3,06	0,011
Smēķēšana	1,10	0,835
Agrīns MI ģimenē	0,80	0,614

*Ģenētisko variāciju atšķirības starp klīniski angiogrāfiskām slimnieku grupām*

Salīdzinot slimniekus ar angiogrāfiski neapstiprinātu KSS ar katru no pārējām klīniski angiogrāfiskām grupām, netika konstatētas statistiski nozīmīgas genotipu atšķirības. Savukārt starp slimniekiem ar stabilu un nestabilu KSS gaitu (sk. 6.2.3. tabulu) būtiski atšķirās Hap\*1 homozigotu īpatsvars (sk. 6.2.1. diagrammu). Starp slimniekiem, kam MI bija attīstījies jau pirmā gada laikā, Hap\*1 homozigoti bija gandrīz divreiz retāk nekā starp slimniekiem ar ilgstoši stabilu stenokardiju (attiecīgi 16,4% un 30,0%; OR=0,458; nekoriģētais p=0,029, ar Jeitsa korekciju p=0,047).

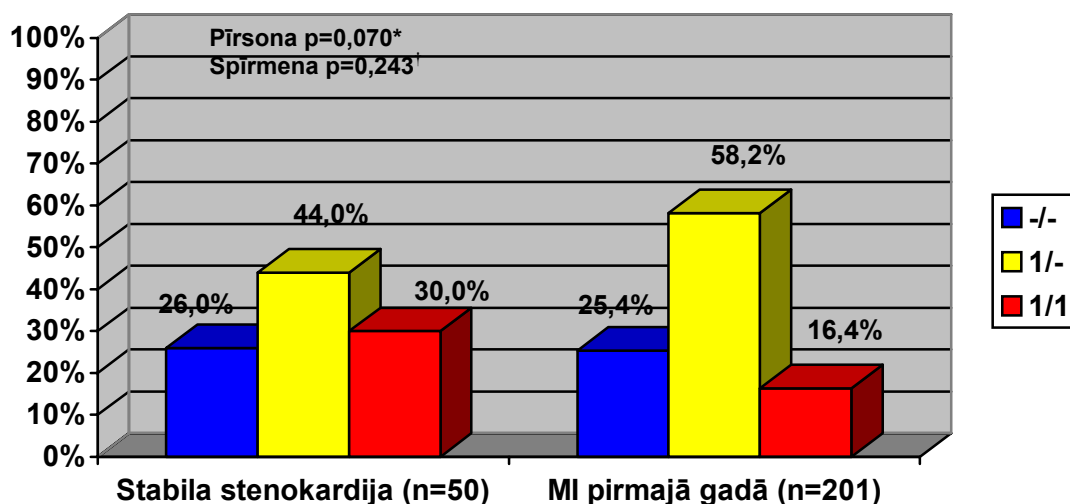
Atšķirības starp abām KSS klīniskām grupām Hap\*1 heterozigotu un homozigotu ziņā atainotas 6.2.2. diagrammā (Pīrsona  $\chi^2$  atšķirības p=0,070; Spīrmena ordinālās korelācijas p=0,243). Veicot MV analīzi, atšķirīgā homozigotu proporcija abām klīniskām grupām saglabājās statistiski ticama, arī ņemot vērā visus tradicionālos RF (Exp(β)= 0,41 nestabilai gaitai vai 2,41 stabilai gaitai; p=0,027; sk. 6.2.3. tabulu).

6.2.1. diagramma. IL-6 promotora Hap\*1 homozigotu prevalence starp personām ar angiogrāfiski neapstiprinātu KSS, slimniekiem ar stabilu un nestabilu slimības gaitu



\* Ņemot vērā neģenētiskos riska faktoros (MVA): vecums, KH līmenis, KMI, dzimums, CD, arteriālā hipertensija, smēķēšana un agrīns MI ģimenē.

6.2.2. diagramma. Hap\*1 skaita sadalījums slimniekiem ar stabilu un nestabilu KSS sākotnējo gaitu



\* Pīrsona  $\chi^2$  tests (atšķirība starp grupām).

† Spīrmena ordinālās korelācijas tests (lineārā tendence).

6.2.3. tabula. Ģenētisko variāciju salīdzinājums slimniekiem ar stabilu (n=50) un nestabilu (n=201) KSS sākotnējo gaitu

	Modelis*	N <sup>†</sup>	% <sup>†</sup>	Vienmainīgā analīze			Daudzmainīgo analīze <sup>‡</sup>	
				R (Spearman)	OR	P vērtība	Exp(β)	P vērtība
<b>IL-1B (-511) C/T</b>								
CC	K	91/112	81,3%	-0,014	-	0,820	0,833	0,505
CT		90/115	78,3%					
TT		20/24	83,3%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	181/227	79,7%	-	0,787	0,794	1,317	0,653
CT+TT (vs. CC)	D (T)	110/139	79,1%	-	0,875	0,797	0,812	0,551
<b>IL-1B (+3954) C/T</b>								
CC	K	125/157	79,6%	0,018	-	0,771	1,224	0,500
CT		65/81	80,2%					
TT		11/13	84,6%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	190/238	79,8%	-	0,720	1,000	0,646	0,609
CT+TT (vs. CC)	D (T)	76/94	80,9%	-	1,081	0,941	1,236	0,556
<b>IL-1RN (VNTR)</b>								
<i>IL-1RN(VNTR)*1</i>								
-/-	K	20/26	76,9%	0,065	-	0,307	1,405	0,185
1/-		80/103	77,7%					
1/1		101/122	82,8%					
Vismaz viena *1 (vs. -/-)	D	181/225	80,4%	-	1,234	0,868	1,365	0,562
Nav 1/1 (vs. 1/1)	R	100/129	77,5%	-	1,395 <sup>§</sup>	0,375	1,649 <sup>§</sup>	0,159
<i>IL-1RN(VNTR)*2</i>								
-/-	K	105/130	80,8%	-0,313	-	0,626	0,745	0,265
2/-		80/99	80,8%					
2/2		16/22	72,7%					
Vismaz viena *2 (vs. -/-)	D	96/121	79,3%	-	0,914	0,900	0,772	0,461
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	185/229	80,8%	-	0,634 <sup>§</sup>	0,402	0,508 <sup>§</sup>	0,217
<i>IL-1RN(VNTR)*3</i>								
-/-	D	194/240	80,8%	-	0,415	0,237	0,531	0,368
3/-		7/11	63,6%					



### 6.2.3. tabula (turpinājums).

<b>IL-6 (-596) G/A</b>									
AA	K	33/49	67,3%	0,098	-	0,120	1,480	0,129	
AG		117/139	84,2%						
GG		51/63	81,0%						
AA+AG (vs. GG)	D (A)	150/188	79,8%	-	0,929	0,986	0,992	0,985	
AG+GG (vs. AA)	D (G)	168/202	83,2%	-	<b>2,396<sup>†</sup></b>	<b>0,022</b>	<b>2,638</b>	<b>0,014</b>	
<b>IL-6 (-572) G/C</b>									
GG	K	177/224	79,0%	0,077	-	0,222	2,050	0,244	
GC		22/25	88,0%						
CC		2/2	100,0%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	199/249	79,9%	-	-	1,000	-	0,999	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	24/27	88,9%	-	2,124	0,338	2,003	0,298	
<b>IL-6 (-373) AnTn</b>									
<i>A8T12 (*1)</i>									
-/-	K	51/64	79,7%	-0,085	-	0,178	0,708	0,175	
1/-		117/138	84,8%						
1/1		33/49	67,3%						
Vismaz viena *1 (vs. -/-)	D	150/187	80,2%	-	1,033	1,000	1,088	0,829	
Nav 1/1 (vs. 1/1)	R	168/202	83,2%	-	<b>0,417<sup>§</sup></b>	<b>0,022</b>	<b>0,379<sup>§</sup></b>	<b>0,014</b>	
<i>A9T11 (*2)</i>									
-/-	K	123/155	79,4%	0,025	-	0,697	1,259	0,454	
2/-		68/84	81,0%						
2/2		10/12	83,3%						
Vismaz viena *2 (vs. -/-)	D	78/96	81,3%	-	1,127	0,839	1,349	0,410	
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	191/239	79,9%	-	1,257 <sup>§</sup>	1,000	1,159 <sup>§</sup>	0,859	
<i>A10T11 (*3)</i>									
-/-	K	139/177	78,5%	0,064	-	0,313	1,506	0,274	
3/-		58/70	82,9%						
3/3		4/4	100,0%						
Vismaz viena *3 (vs. -/-)	D	62/74	83,8%	-	1,412	0,437	1,441	0,355	
Nav 3/3 (vs. 3/3)	R	197/247	79,8%	-	-	0,587	-	0,999	

### 6.2.3. tabula (turpinājums).

<i>A10T10 (*4)</i>									
-/-	K	142/180	78,9%	0,036	-	0,571	0,945	0,861	
4/-		55/64	85,9%						
4/4		4/7	57,1%						
Vismaz viena *4 (vs. -/-)	D	59/71	83,1%	-	1,316	0,564	1,104	0,805	
Nav 4/4 (vs. 4/4)	R	197/244	80,7%	-	0,318 <sup>§</sup>	0,144	0,407 <sup>§</sup>	0,288	
<i>A9T12 (*5)</i>									
-/-	K	199/249	79,9%	-	-	-	-	0,999	
5/-		2/2	100%						
5/5		0/0	0%						
Vismaz viena *5 (vs. -/-)	D	2/2	100%	-	-	1,000	-	0,999	
Nav 5/5 (vs. 5/5)	R	251/251	100%	-	-	-	-	-	
<b>IL-6 (-174) G/C</b>									
GG	K	50/62	80,6%	-0,090	-	0,156	0,694	0,155	
GC		116/138	84,1%						
CC		35/51	68,6%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	166/200	83,0%	-	<b>2,232</b>	<b>0,036</b>	<b>2,503</b>	<b>0,019</b>	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	151/189	79,9%	-	0,954	1,000	1,010	0,981	
<b>IL-6 haplotipi</b>									
<i>Hap*1</i>									
-/-	K	51/64	79,7%	-0,074	-	0,243	0,737	0,233	
1/-		117/139	84,2%						
1/1		33/48	68,8%						
Vismaz viens *1 (vs. -/-)	D	150/187	80,2%	-	1,033	1,000	1,088	0,829	
Nav 1/1 (vs. 1/1)	R	168/203	82,8%	-	<b>0,458<sup>§</sup></b>	<b>0,047</b>	<b>0,414<sup>§</sup></b>	<b>0,027</b>	
<i>Hap*2</i>									
-/-	K	125/158	79,1%	0,037	-	0,555	1,407	0,292	
2/-		67/83	80,7%						
2/2		9/10	90,0%						
Vismaz viens *2 (vs. -/-)	D	76/93	81,7%	-	1,180	0,737	1,436	0,325	
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	192/241	79,7%	-	2,297 <sup>§</sup>	0,692	1,991 <sup>§</sup>	0,531	

### 6.2.3. tabula (turpinājums).

<i>Hap*3</i>									
-/-	K	139/177	78,5%	0,059	-	0,313	1,506	0,274	
3/-		58/70	82,9%						
3/3		4/4	100%						
Vismaz viens *3 (vs. -/-)	D	62/74	83,8%	-	1,412	0,437	1,441	0,355	
Nav 3/3 (vs. 3/3)	R	197/247	79,8%	-	-	0,587	-	0,999	
<i>Hap*4</i>									
-/-	K	166/206	80,6%	-0,032	-	0,613	1,276	0,244	
4/-		33/41	80,5%						
4/4		2/4	50,0%						
Vismaz viens *4 (vs. -/-)	D	35/45	77,8%	-	0,843	0,825	0,679	0,379	
Nav 4/4 (vs. 4/4)	R	199/247	80,6%	-	0,241 <sup>§</sup>	0,178	0,235 <sup>§</sup>	0,197	
<i>Hap*5</i>									
-/-	K	177/224	79,0%	0,077	-	0,222	2,050	0,244	
5/-		22/25	88,0%						
5/5		2/2	100%						
Vismaz viens *5 (vs. -/-)	D	24/27	88,9%	-	2,124	0,338	2,003	0,298	
Nav 5/5 (vs. 5/5)	R	199/249	79,9%	-	-	1,000	-	0,999	
<i>Hap*6</i>									
-/-	D	199/249	79,9%	-	-	1,000	-	0,999	
6/-		2/2	100%						
<i>Hap*7</i>									
-/-	D	198/247	80,2%	-	0,742	1,000	0,569	0,649	
7/-		3/4	75,0%						
<i>Hap*8</i>									
-/-	D	201/250	80,4%	-	-	0,199	-	1,000	
8/-		0/1	0%						
<i>Hap*9</i>									
-/-	D	201/250	80,4%	-	-	0,199	-	1,000	
9/-		0/1	0%						

\* „Gēna devas” modelis: GDE – gēna devas efekts, D – dominants, R – recesīvs.

† Slimnieki ar nestabilu gaitu no visiem slimniekiem ar attiecīgu genotipu.

‡ Modelī iekļautie mainīgie: vecums, dzimums, KH, KMI, CD, arteriālā hipertensija, smēķēšana, MI ģimenē un ģenētiskā variācija.

§ Homozigotu OR vai Exp( $\beta$ ), salīdzinot ar pārējiem slimniekiem.

¶ Ar trekniem burtiem atzīmēti statistiski ticami rezultāti ( $p < 0,05$ ).

No Hap\*1 veidojošām alēlēm visspilgtākā korelācija ar KSS gaitu bija vērojama IL-6 (-596) A un IL-6 (-373) A8T12 homozigotiem (abiem polimorfismiem  $p=0,022$  un  $0,014$  attiecīgi vienmainīgā un daudzmainīgo analīzēs; sk. 6.2.3. tabulu). Papildinot MVA modeli ar vecumu, kad attīstījās pirmā KSS klīniskā manifestācija, Hap\*1 homozigotu saistība ar retāku nestabilu KSS gaitu būtiski nemainījās ( $\text{Exp}(\beta)=0,421$ ;  $p=0,030$ ), kas ļauj izslēgt vecumu kā iespējamo rezultātus ietekmējošo faktoru. Arī vecums, kad manifestējās pirmie KSS simptomi, Hap\*1 homozigotiem šai analīzē neatšķīrās no pārējiem slimniekiem (attiecīgi  $52,1\pm 9,1$  un  $52,7\pm 8,8$  gadi;  $p=0,671$ ).

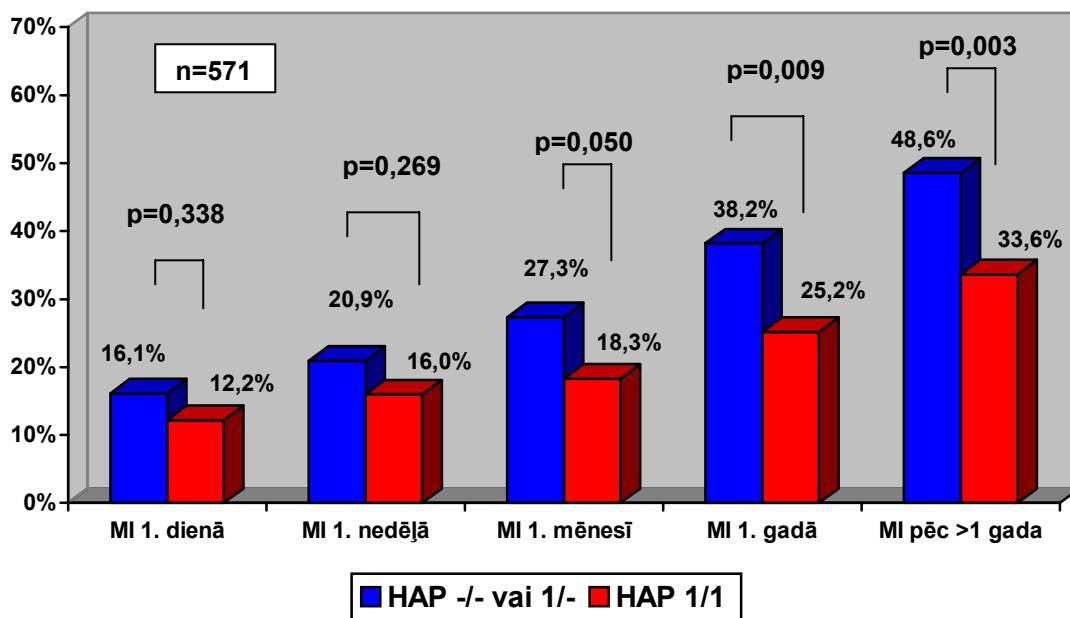
Vienmainīgajā analīzē Hap\*1 homozigotu biežums kontrolgrupā nebija statistiski ticami atšķirīgs no šā haplotipa sastopamības stabilas ( $p=0,301$ ) vai nestabilas gaitas ( $p=0,518$ ) slimniekiem. Arī MV analīzē šīs atšķirības nekļuva nozīmīgas (attiecīgi  $p=0,188$  un  $p=0,570$ ).

### **6.2.2. Laiks līdz pirmajam MI**

Tā kā iepriekšējā analīzē tika atklāts, ka Hap\*1 homozigotiem biežāk ir stabila sākotnējā slimības gaita pirmā gada laikā, tika veikti papildaprēķini, lai noskaidrotu, vai viena gada izvēle par laika kritēriju MI grupā nav radījusi slimnieku atlases un līdz ar to aprēķinu kļūdu. Šim nolūkam atsevišķi tika salīdzināts intervāls līdz pirmā MI attīstības brīdim Hap\*1 homozigotiem un pārējiem slimniekiem. Analīzei tika atlasīti slimnieki ar KSS ( $n=571$ ), starp tiem 381 (66,7%) slimniekam bija MI anamnēze, un 259 slimniekiem (45,4% no visiem jeb 68,0% MI slimnieku) precīzi zināms laiks, kas pagājis no pirmajiem simptomiem līdz pirmajam MI.

Hap\*1 homozigotiem visos analizētajos laikposmos kopš KSS pirmo simptomu sākuma bija vērojama tendence MI attīstīties retāk nekā pārējiem slimniekiem (sk. 6.2.3. diagrammu), un šī atšķirība sasniedza statistiskas ticamības robežu pirmā mēneša laikā ( $p=0,050$ ) un īpaši nozīmīga kļuva pēc pirmā mēneša ( $p<0,01$ ).

**6.2.3. diagramma. Pirmā miokarda infarkta attīstības laiks kopš KSS klīniskās izpausmes sākuma IL-6 promotora 1. haplotipa homozigotiem, salīdzinot ar pārējiem slimniekiem: kumulatīvā incidence\***

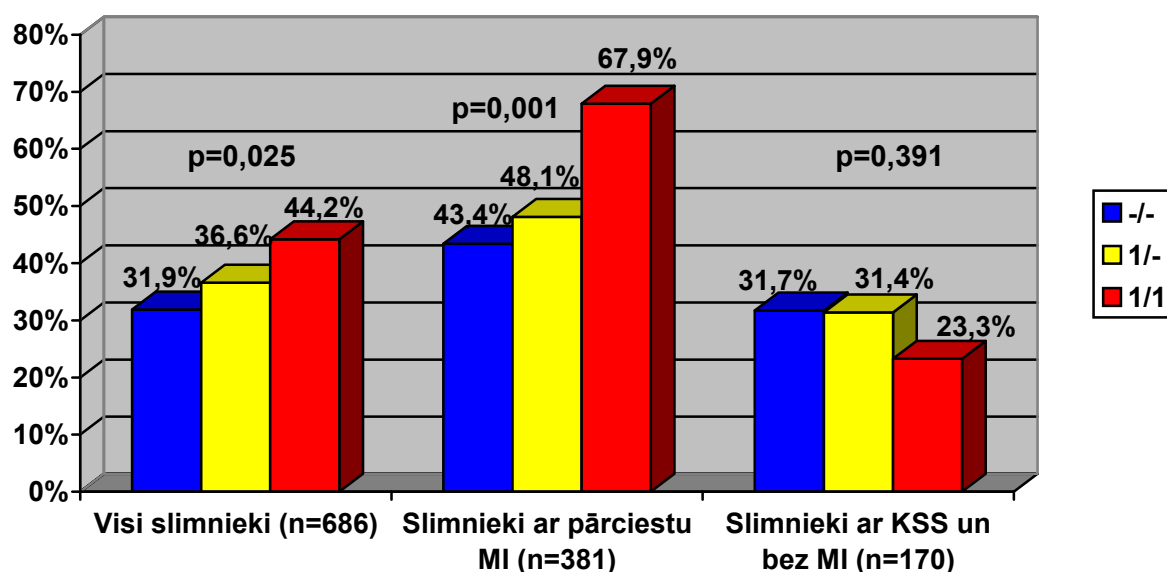


\* No visiem slimniekiem ar angiogrāfiski pierādītu KSS ņemti vērā tikai gadījumi ar skaidru slimības sākotnējo gaitu.

**6.2.3. Vainagartēriju oklūzija**

Analizējot kopējo pētījuma grupu (n=686), 255 slimniekiem (37,2%) tika atrasta vismaz vienas vainagartērijas oklūzija. No visām ģenētiskajām variācijām ar oklūziju no gēna devas atkarīgā veidā korelēja Hap\*1: oklūziju biežums angiogrammā slimniekiem bez Hap\*1 bija 31,9%, ar vienu Hap\*1 – 36,6% un ar abiem Hap\*1 – 44,2% (Spīrmēna ordinālās korelācijas  $r=0,086$  un  $p=0,025$ ; sk. 6.2.4. tabulu un 6.2.4. diagrammu). Homozigotiem oklūzijas OR bija 1,46 salīdzinot ar pārējiem slimniekiem ( $p=0,052$ ). Pēc MV analīzes Hap\*1 skaita un oklūzijas korelācijas statistiskā ticamība mazinājās ( $\text{Exp}(\beta)=1,221$ ;  $p=0,097$ ).

#### 6.2.4. diagramma. Vainagartēriju oklūziju biežums atkarā no IL-6 Hap\*1 skaita



No visiem slimniekiem ar vainagartērijas oklūziju 246 (96,5%) gadījumos bija skaidri zināma informācija par MI anamnēzi. No tiem savukārt 196 slimniekiem (79,7%) bija pozitīva un 50 slimniekiem – negatīva MI anamnēze (19,6%). Vismaz viena vainagartērija bija okludēta 29,4% (50/170) KSS slimnieku bez MI anamnēzes un 51,4% (196/381) slimnieku ar pārciestu MI.

Analizējot atsevišķi slimniekus ar zināmu pārciestu MI (n=381), Hap\*1 homozigotiem bija statistiski ticami daudz biežākas oklūzijas (67,9%) nekā slimniekiem ar vienu (48,1%) vai nevienu (43,4%) šo haplotipa variantu ( $r=0,163$ ;  $p=0,001$ ; sk. 6.2.4. diagrammu). Salīdzinot Hap\*1 homozigotus ar pārējiem genotipiem kopumā (recesīva efekta modelis), statistiskā ticamība saglabājās ( $p=0,001$ ). Lai gan starp slimniekiem bez MI (n=170) Hap\*1 homozigotiem oklūzijas atrada retāk (23,3%, salīdzinot ar 31,4% un 31,7%), šī atšķirība nebija statistiski ticama ne gēna devas ( $r=-0,066$ ;  $p=0,391$ ), ne recesīvā modelī ( $p=0,406$ ).

6.2.4. tabula. Ģenētisko variāciju salīdzinājums slimniekiem ar un bez vainagartēriju oklūzijām (n=686)

	Modelis*	N <sup>†</sup>	% <sup>†</sup>	Vienmainīgā analīze			Daudzmainīgo analīze <sup>‡</sup>	
				R (Spearman)	OR	P vērtība	Exp(β)	P vērtība
<b>IL-1B (-511) C/T</b>								
CC	GDE	107/307	34,9%	0,046	-	0,225	1,129	0,320
CT		119/309	38,5%					
TT		29/70	41,1%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	226/616	36,7%	-	0,819	0,518	0,864	0,577
CT+TT (vs. CC)	D (T)	148/379	39,1%	-	1,198	0,293	1,171	0,331
<b>IL-1B (+3954) C/T</b>								
CC	GDE	152/400	38,0%	-0,029	-	0,452	0,894	0,391
CT		90/240	37,5%					
TT		13/46	28,3%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	242/640	37,8%	-	1,543	0,256	1,645	0,150
CT+TT (vs. CC)	D (T)	103/286		-	0,918	0,652	0,945	0,730
<b>IL-1RN (VNTR)</b>								
<i>IL-1RN(VNTR)*1</i>								
-/-	GDE	23/63	36,5%	0,002	-	0,952	1,038	0,765
1/-		111/298	37,2%					
1/1		121/325	37,2%					
Vismaz viena *1 (vs. -/-)	D	232/623	37,2%	-	1,032	1,000	1,084	0,771
Nav 1/1 (vs. -/1 un 1/1)	R	134/361	37,1%	-	1,005 <sup>§</sup>	1,000	1,036 <sup>§</sup>	0,826
<i>IL-1RN(VNTR)*2</i>								
-/-	GDE	126/340	37,1%	0,007	-	0,847	1,008	0,953
2/-		109/297	36,7%					
2/2		20/49	40,8%					
Vismaz viena *2 (vs. -/-)	D	129/346	37,3%	-	1,010	1,000	0,986	0,930
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	235/637	36,9%	-	1,180 <sup>§</sup>	0,693	1,100 <sup>§</sup>	0,757
<i>IL-1RN(VNTR)*3</i>								
-/-	D	247/658	37,5%	-	0,666	0,446	0,646	0,315
3/-		8/28	28,6%					

#### 6.2.4. tabula (turpinājums).

<b>IL-6 (-596) G/A</b>									
AA	GDE	69/157	43,9%	<b>-0,080<sup>f</sup></b>	-	<b>0,035</b>	0,837	0,140	
AG		134/369	36,3%						
GG		52/160	32,5%						
AA+AG (vs. GG)	D (A)	203/526	38,6%	-	1,305	0,193	1,215	0,319	
AG+GG (vs. AA)	D (G)	186/529	35,2%	-	0,692	0,057	0,770	0,169	
<b>IL-6 (-572) G/C</b>									
GG	GDE	226/605	37,4%	-0,010	-	0,785	0,946	0,815	
GC		28/78	35,9%						
CC		1/3	33,3%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	254/683	37,2%	-	1,184	1,000	0,893	0,929	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	29/81	35,8%	-	0,935	0,881	0,936	0,792	
<b>IL-6 (-373) AnTn</b>									
<i>A8T12 (*1)</i>									
-/-	GDE	52/163	31,9%	<b>0,084</b>	-	<b>0,028</b>	1,212	0,109	
1/-		135/368	36,7%						
1/1		68/155	43,9%						
Vismaz viena *1 (vs. -/-)	D	203/523	38,8%	-	1,354	0,133	1,271	0,218	
Nav 1/1 (vs. 1/1)	R	187/531	35,2%	-	1,438 <sup>§</sup>	0,062	1,293 <sup>§</sup>	0,177	
<i>A9T11 (*2)</i>									
-/-	GDE	166/430	38,6%	-0,033	-	0,390	0,982	0,895	
2/-		76/225	33,8%						
2/2		13/31	41,9%						
Vismaz viena *2 (vs. -/-)	D	89/256	34,8%	-	0,848	0,355	0,923	0,636	
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	242/655	36,9%	-	1,233 <sup>§</sup>	0,710	1,320 <sup>§</sup>	0,466	
<i>A10T11 (*3)</i>									
-/-	GDE	191/493	38,7%	-0,054	-	0,156	0,783	0,133	
3/-		60/177	33,9%						
3/3		4/16	25,0%						
Vismaz viena *3 (vs. -/-)	D	64/193	33,2%	-	0,784	0,203	0,783	0,179	
Nav 3/3 (vs. 3/3)	R	25/670	37,5%	-	0,556 <sup>§</sup>	0,449	0,535 <sup>§</sup>	0,293	



#### 6.2.4. tabula (turpinājums).

<i>A10T10 (*4)</i>									
-/-	GDE	192/508	37,8%	-0,027	-	0,482	0,871	0,418	
4/-		62/167	37,1%						
4/4		1/10	9,1%						
Vismaz viena *4 (vs. -/-)	D	63/178	35,4%	-	0,902	0,631	0,931	0,698	
Nav 4/4 (vs. 4/4)	R	254/675	37,6%	-	0,166 <sup>§</sup>	0,061	0,186 <sup>§</sup>	0,112	
<i>A9T12 (*5)</i>									
-/-	GDE	250/677	36,9%	-	-	-	-	-	
5/-		5/9	55,6%						
5/5		-							
Vismaz viena *5 (vs. -/-)	D	5/9	55,6%	-	2,135	0,304	2,331	0,216	
Nav 5/5 (vs. 5/5)	R	0/0	0%	-	-	-	-	-	
<b>IL-6 (-174) G/C</b>									
GG	GDE	50/158	31,6%	<b>0,090</b>	-	<b>0,019</b>	1,235	0,079	
GC		134/368	36,4%						
CC		71/160	44,4%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	184/526	35,0%	-	0,674	0,039	0,746	0,120	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	205/528	38,8%	-	<b>1,371</b>	0,122	1,285	0,203	
<b>IL-6 haplotipi</b>									
<i>Hap*1</i>									
-/-	GDE	52/163	31,9%	<b>0,086</b>	-	<b>0,025</b>	1,221	0,097	
1/-		135/369	36,6%						
1/1		68/154	44,2%						
Vismaz viens *1 (vs. -/-)	D	203/523	38,8%	-	1,354	0,133	1,271	0,218	
Nav 1/1 (vs. 1/1)	R	187/532	35,2%	-	1,459 <sup>§</sup>	0,052	1,316 <sup>§</sup>	0,149	
<i>Hap*2</i>									
-/-	GDE	170/438	38,8%	-0,039	-	0,304	0,964	0,801	
2/-		73/220	33,2%						
2/2		12/28	42,9%						
Vismaz viens *2 (vs. -/-)	D	85/248	34,3%	-	0,822	0,272	0,897	0,520	
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	243/658	36,9%	-	1,281 <sup>§</sup>	0,663	0,403 <sup>§</sup>	0,403	

#### 6.2.4. tabula (turpinājums).

<i>Hap*3</i>									
-/-	GDE	191/493	38,7%	-0,054	-	0,156	0,783	0,133	
3/-		60/177	33,9%						
3/3		4/16	25,0%						
Vismaz viens *3 (vs. -/-)	D	64/193	33,2%	-	0,784	0,203	0,783	0,179	
Nav 3/3 (vs. 3/3)	R	251/670	37,5%	-	0,556 <sup>§</sup>	0,449	0,535 <sup>§</sup>	0,293	
<i>Hap*4</i>									
-/-	GDE	221/586	37,7%	-0,029	-	0,445	0,837	0,414	
4/-		34/95	35,8%						
4/4		0/5	0%						
Vismaz viens *4 (vs. -/-)	D	34/100	34,0%	-	0,851	0,550	0,896	0,635	
Nav 4/4 (vs. 4/4)	R	255/681	37,4%	-	-	0,163	-	0,999	
<i>Hap*5</i>									
-/-	GDE	226/605	37,4%	-0,010	-	0,785	0,946	0,815	
5/-		28/78	35,9%						
5/5		1/3	33,3%						
Vismaz viens *5 (vs. -/-)	D	29/81	35,8%	-	0,935	0,881	0,936	0,792	
Nav 5/5 (vs. 5/5)	R	254/683	37,2%	-	0,844 <sup>§</sup>	1,000	1,12 <sup>§</sup>	0,929	
<i>Hap*6</i>									
-/-	D	250/677	36,9%	-	2,135	0,304	2,331	0,216	
6/-		5/9	55,6%						
<i>Hap*7</i>									
-/-	D	251/680	36,9%	-	3,418	0,202	4,002	0,115	
7/-		4/6	66,7%						
<i>Hap*8</i>									
-/-	D	254/681	37,3%	-	0,420	0,656	0,322	0,320	
8/-		1/5	20,0%						
<i>Hap*9</i>									
-/-	D	255/685	37,2%	-	-	1,000	<0,001	1,000	
9/-		0/1	0,0%						

\* „Gēna devas” modelis: GDE – gēna devas efekts, D – dominants, R – recesīvs.

† Slimnieki ar nestabilu gaitu no visiem slimniekiem ar attiecīgu genotipu.

‡ Modelī iekļautie mainīgie: vecums, dzimums, KH, KMI, CD, arteriālā hipertensija, smēķēšana, MI ģimenē un ģenētiskā variācija.

§ Homozigotu OR vai Exp( $\beta$ ), salīdzinot ar pārējiem slimniekiem.

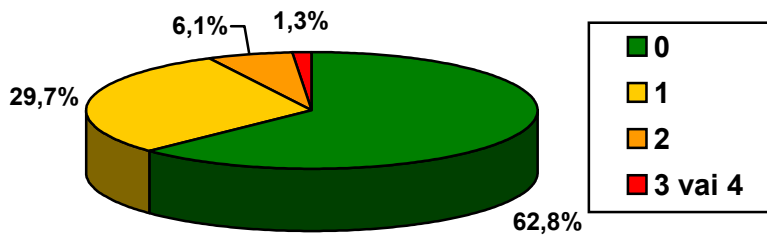
¶ Ar trekniem burtiem atzīmēti statistiski ticamie rezultāti ( $p < 0,05$ ).

#### 6.2.4. Oklūziju skaits

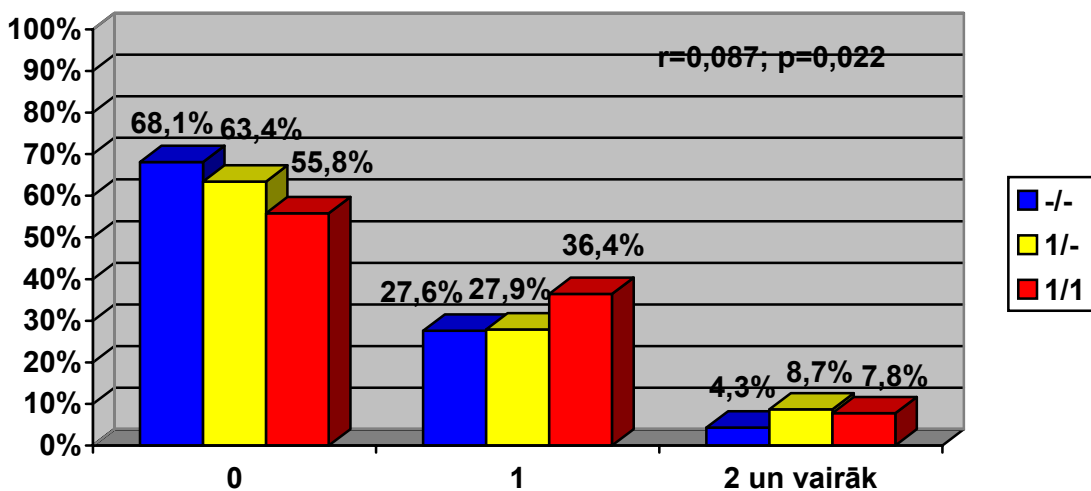
No visiem slimniekiem 204 gadījumos (29,7%) angiogrāfiski tika konstatēta vienas artērijas oklūzija un 51 (7,4%) - divu vai vairāk artēriju oklūzija (sk. 6.2.5. diagrammu). Papildaprēķinos tika meklēta sakarība starp IL ģenētiskiem polimorfismiem un okludēto artēriju skaitu. Hap\*1 kopiju skaits korelēja ar okludēto (0, 1 vai  $\geq 2$ ) artēriju skaitu ( $r=0,087$ ;  $p=0,022$ ; sk. 6.2.6. diagrammu). Līdzīga sakarība bija vērojama arī IL-6 (-174) C alēlei ( $r=0,090$ ;  $p=0,019$ ), IL-6 (-596) A alēlei ( $r=0,082$ ;  $p=0,033$ ) un IL-6 (-373) A8T12 alēlei ( $r=0,086$ ,  $p=0,025$ ).

Starp slimniekiem pēc pārciesta MI Hap\*1 homozigotiem biežāk novēroja vienas artērijas oklūziju (sk. 6.2.7. diagrammu). Tomēr statistiski nozīmīgu asociāciju ar oklūziju skaitu atkarā no MI anamnēzes nenovēroja (sk. 6.2.7. un 6.2.8. diagrammu).

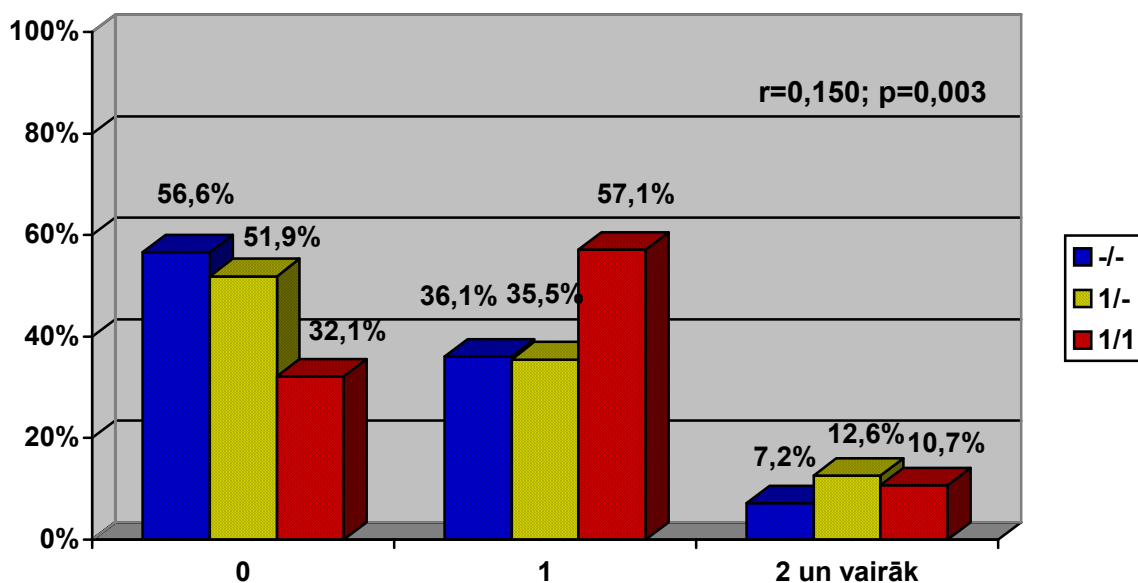
6.2.5. diagramma. Okludēto artēriju skaits visā slimnieku grupā (n=686)



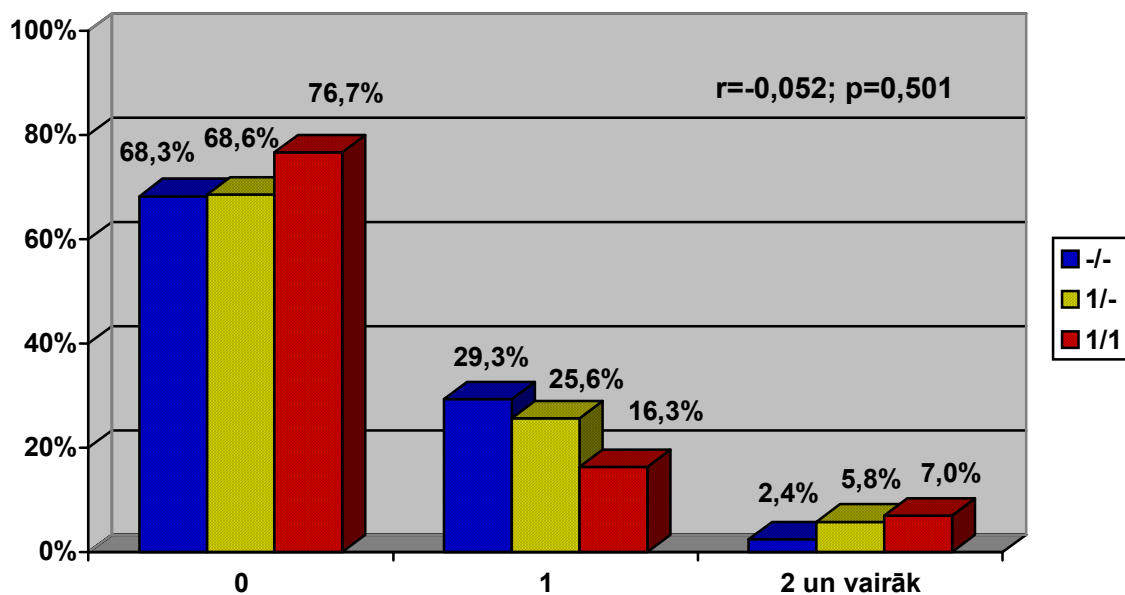
6.2.6. diagramma. Pirmā haplotipa saistība ar okludēto artēriju skaitu (n=686)



6.2.7. diagramma. Pirmā haplotipa saistība ar okludēto artēriju skaitu slimniekiem ar MI anamnēzē (n=381)



6.2.8. diagramma. Pirmā haplotipa saistība ar okludēto artēriju skaitu slimniekiem bez MI anamnēzē (n=170)



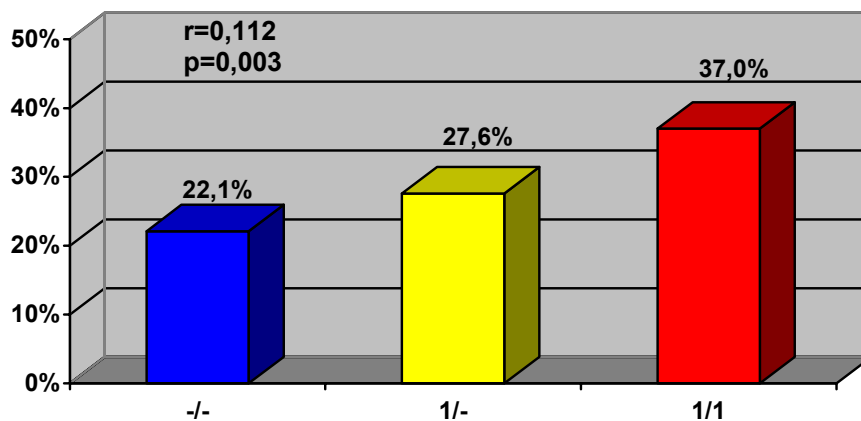
### 6.2.5. Slimnieki ar MI un vainagartērijas oklūziju

No visiem slimniekiem 195 (28,4%) bija nešaubīga pārciesta MI diagnoze, kas tika apstiprināta arī angiogrāfiski, konstatējot vainagartērijas oklūziju. Šī grupa tika analizēta atsevišķi divu apsvērumu dēļ:

- 1) oklūzija ir ļoti nozīmīgs objektīvs kritērijs, kura nozīme MI diagnozes apstiprināšanā ir īpaši svarīga pētījumā ar retrospektīvu datu noskaidrošanu par MI;
- 2) lai gan pētījumā netika atzīmēts, vai iepriekš pārciestie MI tika ārstēti ar trombolītisko terapiju, šo datu analīze var palīdzēt identificēt ģenētiskos faktorus, kas ietekmētu slimniekiem nelabvēlīgu iepriekšējo MI iznākumu, proti, persistējošu oklūziju.

Analizējot kombinētā kritērija (MI anamnēze un vainagartērijas oklūzija) biežumu visā slimnieku grupā (n=686), IL-6 promotora apvidus pirmais haplotips stipri korelēja ar MI/oklūziju no gēna devas atkarīgā veidā (sk. 6.2.5. tabulu). Slimniekiem bez Hap\*1, ar vienu un abiem Hap\*1 MI/oklūzijas biežums proporcionāli pieauga: attiecīgi 22,1%, 27,6% un 37,0% slimnieku ( $r=0,112$ ;  $p=0,003$ ; sk. 6.2.9. diagrammu). Hap\*1 homozigotiem MI/oklūzijas varbūtība bija par 68% lielāka nekā pārējiem slimniekiem ( $OR=1,678$ ,  $p=0,007$ ). Pārlicinoša Hap\*1 saistība ar biežāku MI/oklūziju saglabājās, arī veicot MV analīzi ( $Exp(\beta)=1,391$ ;  $p=0,011$ ). Jāatzīmē, ka no visiem regresijas modelī ievadītiem tradicionāliem RF tikai smēķēšanas  $Exp(\beta)$  koeficients (1,576) bija lielāks nekā Hap\*1, kas liecina, ka atrastajai sakarībai ir ne tikai statistiska ticamība, bet arī liels ietekmes spēks.

**6.2.9. diagramma. Kombinētā kritērija (vainagartērijas oklūzija pēc pārciesta miokarda infarkta) prevalence atkarā no Hap\*1 skaita (n=686)**



6.2.5. tabula. Ģenētiskās variācijas un kombinētais kritērijs: vainagartērijas oklūzija un miokarda infarkts (n=686)

	Modelis*	N <sup>†</sup>	% <sup>†</sup>	Vienmainīgā analīze			Daudzmainīgo analīze <sup>‡</sup>	
				R (Spearman)	OR	P vērtība	Exp(β)	P vērtība
<b>IL-1B (-511) C/T</b>								
CC	GDE	82/307	26,7%	0,047	-	0,222	1,147	0,290
CT		88/309	28,5%					
TT		25/70	35,7%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	170/616	27,6%	-	0,686	0,198	0,748	0,283
CT+TT (vs. CC)	D (T)	113/379	29,8%	-	1,166	0,417	1,137	0,459
<b>IL-1B (+3954) C/T</b>								
CC	GDE	114/400	28,5%	-0,010	-	0,793	0,943	0,673
CT		71/240	29,6%					
TT		10/46	21,7%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	185/640	28,9%	-	1,464	0,383	1,471	0,302
CT+TT (vs. CC)	D (T)	81/286	28,3%	-	0,991	1,000	0,999	0,994
<b>IL-1RN (VNTR)</b>								
<i>IL-1RN(VNTR)*1</i>								
-/-	GDE	18/63	28,6%	0,020	-	0,599	1,088	0,528
1/-		81/298	27,2%					
1/1		96/325	29,5%					
Vismaz viena *1 (vs. -/-)	D	177/623	28,4%	-	0,992	1,000	0,994	0,985
Nav 1/1 (vs. -/1 un 1/1)	R	99/361	27,4%	-	1,109 <sup>§</sup>	0,597	1,154 <sup>§</sup>	0,406
<i>IL-1RN(VNTR)*2</i>								
-/-	GDE	99/340	29,1%	-0,007	-	0,852	0,969	0,822
2/-		80/297	26,9%					
2/2		16/49	32,7%					
Vismaz viena *2 (vs. -/-)	D	96/346	27,7%	-	0,935	0,754	0,906	0,568
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	179/637	28,1%	-	1,241 <sup>§</sup>	0,606	1,196 <sup>§</sup>	0,577
<i>IL-1RN(VNTR)*3</i>								
-/-	D	190/658	28,9%	-	0,535	0,293	0,540	0,224
3/-		5/28	17,9%					

### 6.2.5. tabula (turpinājums).

<b>IL-6 (-596) G/A</b>									
AA	GDE	58/157	36,9%	<b>-0,109<sup>†</sup></b>	-	<b>0,004</b>	<b>0,728</b>	<b>0,014</b>	
AG		101/369	27,4%						
GG		36/160	22,5%						
AA+AG (vs. GG)	D (A)	159/526	30,2%	-	1,492	0,072	1,433	0,096	
AG+GG (vs. AA)	D (G)	137/529	25,9%	-	<b>0,597</b>	<b>0,010</b>	<b>0,637</b>	<b>0,023</b>	
<b>IL-6 (-572) G/C</b>									
GG	GDE	174/605	28,8%	-0,020	-	0,601	0,878	0,616	
GC		20/78	25,6%						
CC		1/3	33,3%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	194/683	28,4%	-	0,867	0,689	0,611	0,696	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	21/81	25,9%	-	0,793	1,000	0,848	0,546	
<b>IL-6 (-373) AnTn</b>									
<i>A8T12 (*1)</i>									
-/-	GDE	36/163	22,1%	<b>0,110</b>	-	<b>0,004</b>	<b>1,382</b>	<b>0,012</b>	
1/1		102/368	27,7%						
1/1		57/155	36,8%						
Vismaz viena *1 (vs. -/-)	D	159/523	30,4%	-	1,541	0,050	1,487	0,065	
Nav 1/1 (vs. 1/1)	R	138/531	26,0%	-	<b>1,656<sup>§</sup></b>	<b>0,012</b>	<b>1,548<sup>§</sup></b>	<b>0,028</b>	
<i>A9T11 (*2)</i>									
-/-	GDE	131/430	30,5%	-0,052	-	0,171	0,896	0,472	
2/-		54/225	24,0%						
2/2		10/31	32,3%						
Vismaz viena *2 (vs. -/-)	D	64/256	25,0%	-	0,761	0,148	0,814	0,258	
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R	185/655	28,2%	-	1,210 <sup>§</sup>	0,779	1,290 <sup>§</sup>	0,525	
<i>A10T11 (*3)</i>									
-/-	GDE	152/493	30,8%	<b>-0,086</b>	-	<b>0,024</b>	<b>0,664</b>	<b>0,024</b>	
3/-		40/177	22,6%						
3/3		3/16	18,8%						
Vismaz viena *3 (vs. -/-)	D	43/193	22,3%	-	<b>0,643</b>	<b>0,032</b>	<b>0,637</b>	<b>0,026</b>	
Nav 3/3 (vs. 3/3)	R	192/670	28,7%	-	0,575 <sup>§</sup>	0,576	0,543 <sup>§</sup>	0,352	

### 6.2.5. tabula (turpinājums).

<i>A10T10 (*4)</i>									
-/-	GDE	145/508	28,5%	-0,008	-	0,827	0,928	0,681	
4/-		49/167	29,3%						
4/4		1/11	9,1%						
Vismaz viena *4 (vs. -/-)	D	50/178	28,1%	-	0,978	0,985	0,984	0,933	
Nav 4/4 (vs. 4/4)	R	194/675	28,7%	-	0,248 <sup>§</sup>	0,194	0,275 <sup>§</sup>	0,222	
<i>A9T12 (*5)</i>									
-/-	GDE	192/677	28,4%	-	-	-	1,420	0,626	
5/-		3/9	33,3%						
5/5		0/0	-						
Vismaz viena *5 (vs. -/-)	D	3/9	33,3%	-	1,263	0,719	1,420	0,626	
Nav 5/5 (vs. 5/5)	R	195/686	28,4%	-	-	-	-	-	
<b>IL-6 (-174) G/C</b>									
GG	GDE	35/158	22,2%	<b>0,111</b>	-	<b>0,004</b>	<b>1,387</b>	<b>0,011</b>	
GC		101/368	27,4%						
CC		59/160	36,9%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	136/526	25,9%	-	<b>0,597</b>	<b>0,009</b>	<b>0,637</b>	<b>0,022</b>	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	160/528	30,3%	-	1,528	0,058	1,474	0,075	
<b>IL-6 haplotipi</b>									
<i>Hap*1</i>									
-/-	GDE	36/163	22,1%	<b>0,112</b>	-	<b>0,003</b>	<b>1,391</b>	<b>0,011</b>	
1/-		102/369	27,6%						
1/1		57/154	37,0%						
Vismaz viens *1 (vs. -/-)	D	159/523	30,4%	-	1,541	0,050	1,487	0,065	
Nav 1/1 (vs. 1/1)	R	138/532	25,9%	-	<b>1,678<sup>§</sup></b>	<b>0,010</b>	<b>1,570<sup>§</sup></b>	<b>0,023</b>	
<i>Hap*2</i>									
-/-	GDE	133/438	30,4%	-0,052	-	0,176	0,895	0,479	
2/-		53/220	24,1%						
2/2		9/28	32,1%						
Vismaz viens *2 (vs. -/-)	D				0,764	0,159	0,818	0,274	
Nav 2/2 (vs. 2/2)	R				1,202 <sup>§</sup>	0,817	1,306 <sup>§</sup>	0,528	



### 6.2.5. tabula (turpinājums).

<i>Hap*3</i>									
-/-	GDE	152/493	30,8%	-0,086	-	0,024	0,664	0,024	
3/-		40/177	22,6%						
3/3		3/16	18,8%						
Vismaz viens *3 (vs. -/-)	D	43/193	22,3%	-	0,643	0,032	0,637	0,026	
Nav 3/3 (vs. 3/3)	R	192/670	28,7%	-	0,575 <sup>§</sup>	0,576	0,543 <sup>§</sup>	0,352	
<i>Hap*4</i>									
-/-	GDE	166/586	28,3%	0,003	-	0,931	0,984	0,944	
4/-		29/95	30,5%						
4/4		0/5	0%						
Vismaz viens *4 (vs. -/-)	D	29/100	29,0%	-	1,033	0,986	1,063	0,802	
Nav 4/4 (vs. 4/4)	R	195/681	28,6%	-	-	0,329	-	1,000	
<i>Hap*5</i>									
-/-	GDE	174/605	28,8%	-0,020	-	0,601	0,878	0,616	
5/-		20/78	25,6%						
5/5		1/3	33,3%						
Vismaz viens *5 (vs. -/-)	D	21/81	25,9%	-	0,867	0,689	0,848	0,546	
Nav 5/5 (vs. 5/5)	R	194/683	28,4%	-	1,260 <sup>§</sup>	1,000	1,637 <sup>§</sup>	0,696	
<i>Hap*6</i>									
-/-	D	192/677	28,4%	-	1,263	0,743	1,420	0,626	
6/-		3/9	33,3%						
<i>Hap*7</i>									
-/-	D	193/680	28,4%	-	1,262	0,679	1,361	0,727	
7/-		2/4	33,3%						
<i>Hap*8</i>									
-/-	D	194/681	28,5%	-	0,628	1,000	0,554	0,602	
8/-		1/5	20,0%						
<i>Hap*9</i>									
-/-	D	195/685	28,5%	-	-	1,000	0,872	0,539	
9/-		0/1	0%						

\* - „Gēna devas” modelis: GDE – gēna devas efekts, D – dominants, R – recesīvs.

† - Slimnieki ar nestabilu gaitu no visiem slimniekiem ar attiecīgu genotipu.

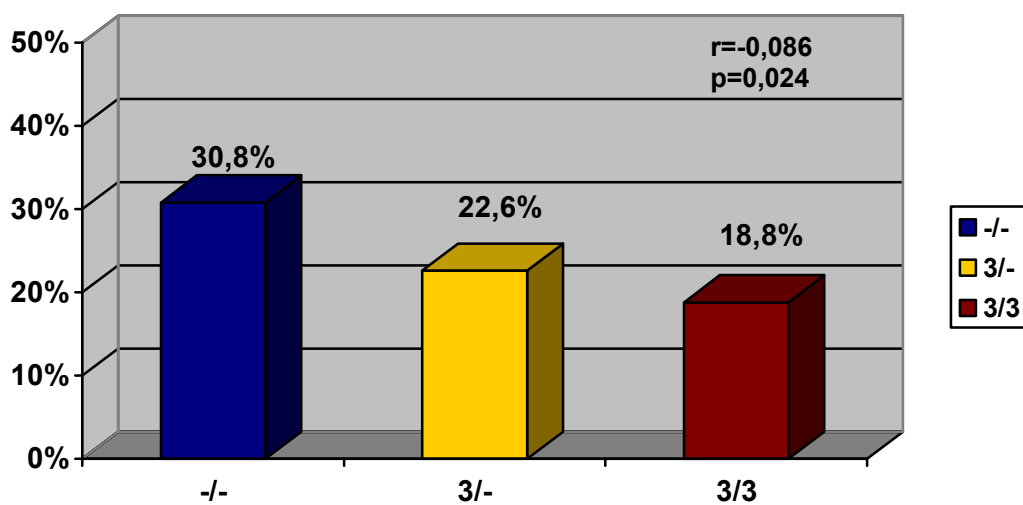
‡ - Modeļi iekļautie mainīgie: vecums, dzimums, KH, KMI, CD, arteriālā hipertensija, smēķēšana, MI ģimenē un ģenētiskā variācija.

§ - Homozigotu OR vai  $\text{Exp}(\beta)$ , salīdzinot ar pārējiem slimniekiem.

¶ - Ar trekniem burtiem atzīmēti statistiski ticamie rezultāti ( $p < 0,05$ ).

No citiem polimorfismiem statistiski ticami retāku MI un oklūzijas kombināciju novēroja A10T11 (Hap\*3) nēsātājiem: attiecīgi 30,8%, 22,6% un 18,8% slimnieku bez nevienas, ar vienu un abām alēlēm ( $r=-0,086$ ;  $p=0,024$ ; sk. 6.2.10. diagrammu). Salīdzinot vismaz vienas A10T11 alēles nēsātājus ar tiem, kas nebija šās alēles nēsātāji, atšķirība (attiecīgi 22,3% un 30,8%) bija joprojām nozīmīga ( $OR=0,643$ ;  $p=0,032$ ; sk. 6.2.5. tabulu). Tā kā A10T11 homozigotu skaits kopā bija neliels (16 slimnieki), nav iespējams nepārprotami spriest par alēles ietekmes veidu, tomēr absolūtie procentuālie rezultāti un fakts, ka homozigoti būtiski neatšķīrās no heterozigotiem, liecina par alēles dominanto efektu. Arī MV analizē A10T11 saistība ar retākām oklūzijām pēc MI saglabāja statistisku ticamību ( $Exp(\beta)=0,664$ ;  $p=0,024$ ; sk. 6.2.5. tabulu).

**6.2.10. diagramma. Kombinētā kritērija (vainagartērijas oklūzija pēc pārciesta miokarda infarkta) prevalence atkarā no Hap\*3 skaita (n=686)**



### Citi klīniskie kritēriji

Tika veiktas arī vairākas papildanalīzes, kuru mērķi bija divi:

1. Izslēgt varbūtību, ka iepriekš atklātās saistības ir netieši saistītas ar citiem KSS norises faktoriem, piemēram, KSS attīstības risku (neatkarīgi no klīniskās gaitas).
2. Analizēt citas potenciālās polimorfismu saistības ar KSS un tās izpausmēm.

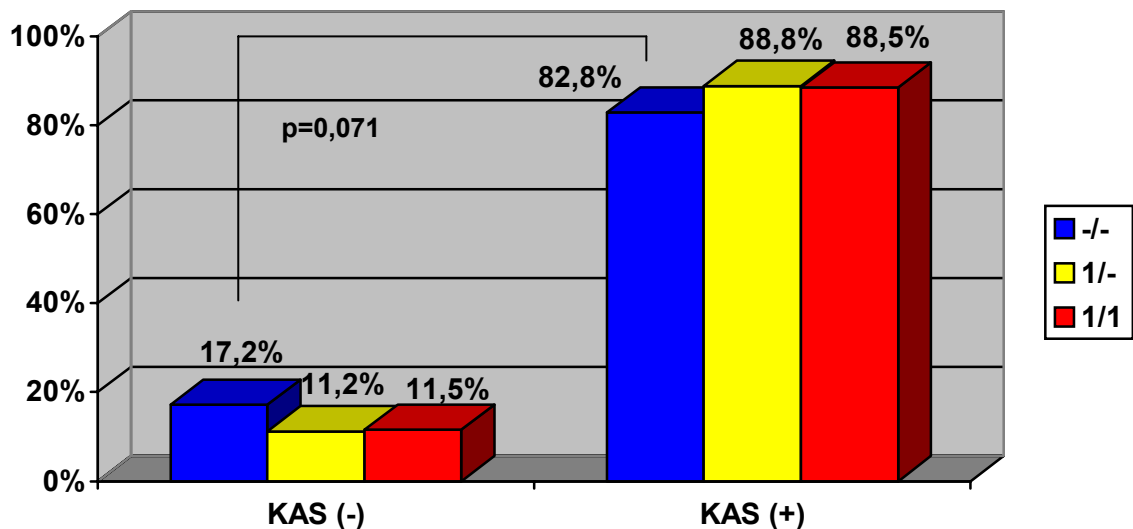
### 6.2.6. Slimnieki ar un bez KSS

Lai salīdzinātu ģenētisko variāciju atšķirības starp slimniekiem, kam angiogrāfiski tika apstiprināta KSS (angiogrāfiski stenoze >50%; n=571; 87,3%) un slimniekiem bez jebkādiem angiogrāfiskiem norādījumiem par KSS (n=83; 12,7%), atsevišķi tika analizētas šo slimnieku apakšgrupas (n=654). Netika iekļauti slimnieki, kam angiogrāfiski bija aizdomas par pangām, kas stenozēja lūmenu par mazāk nekā 50%.

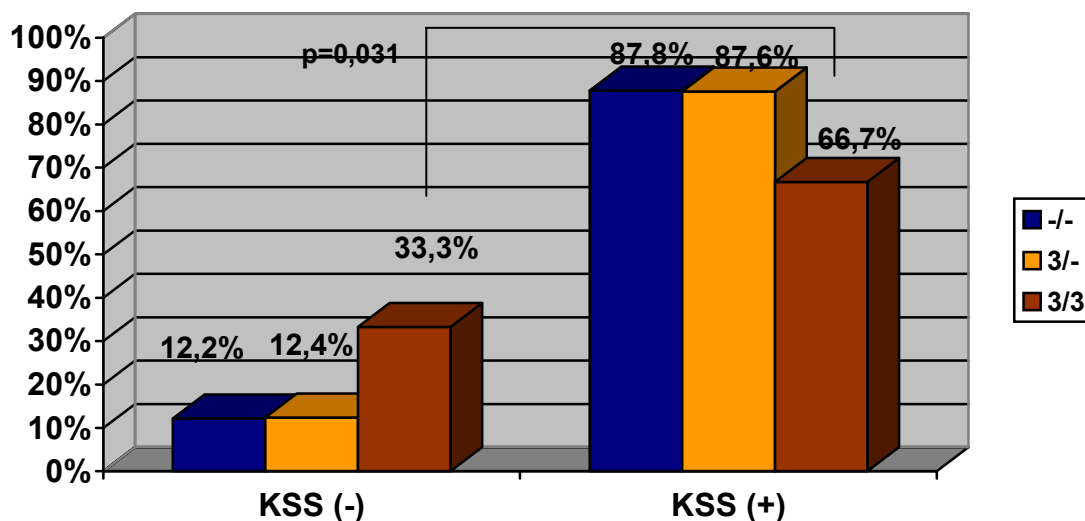
Vismaz viena Hap\*1 nēsātājiem biežāk tika atklāta KSS (88,7% vs. 82,8%; sk. 6.2.11. diagrammu), lai gan šī sakarība nerasniedza statistisko ticamību (OR=1,636; p=0,071) un MV analizē kļuva vājāka (Exp(β)=1,575; p=0,086). No Hap\*1 raksturīgām sastāvdaļām, statistiski ticamāka saistība bija IL-6(-174) C alēles nēsātājiem (88,8% vs. 82,2%) gan UVA (OR=1,720; p=0,045), gan MVA (Exp(β)=1,640; p=0,062).

No citām ģenētiskām variācijām nozīmīga saistība tika atrasta Hap\*3 homozigotiem, kam retāk novēroja KAS (66,7% vs. 87,8%; OR=0,28; p=0,031; sk. 6.2.12. diagrammu), un šī korelācija saglabāja statistisku ticamību arī pēc MVA (Exp(β)=0,234; p=0,015). Jāpiebilst, ka visi šie slimnieki bija arī IL-6 (-373) A10T11 homozigoti un to kopējais skaits bija neliels (n=15).

### 6.2.11. diagramma. Angiogrāfiski apstiprinātas vainagartēriju slimības biežums atkarā no Hap\*1 skaita (n=654)



**6.2.12. diagramma. Angiogrāfiski apstiprinātas vainagartēriju slimības biežums atkarā no Hap\*3 skaita (n=654)**

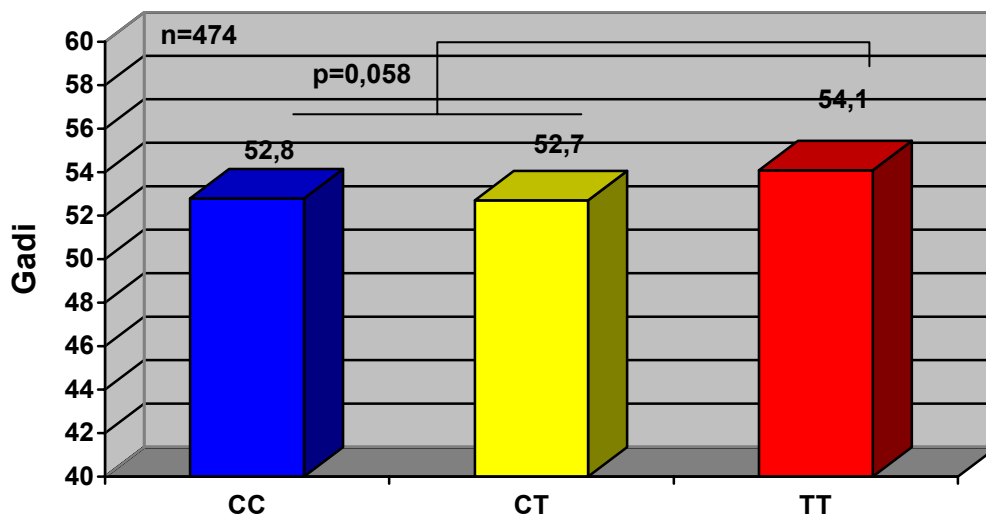


**6.2.7. KSS attīstības vecums**

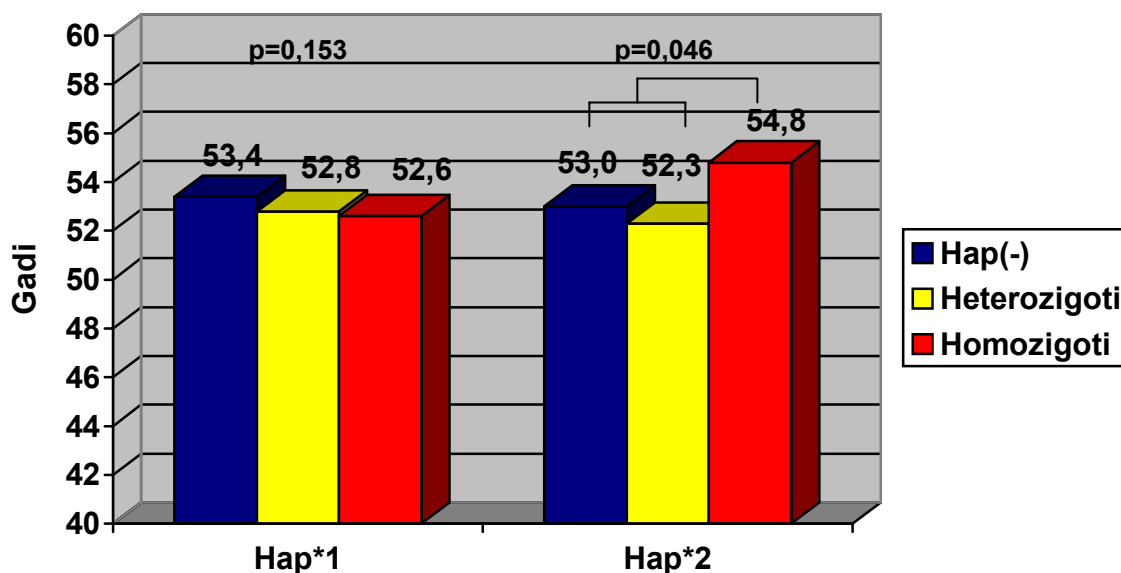
Šai analīzei tika atlasīti slimnieki (n=474), kam angiogrāfiski bija apstiprināta KAS, bija zināms vecums, kad radušies pirmie KSS simptomi. No visām analizētajām ģenētiskajām variācijām visstiprākā korelācija bija vērojama ar IL-1B (+3954) polimorfismu - T homozigotiem KSS pirmie simptomi bija attīstījušies par vidēji 3,6 gadiem vēlāk nekā C alēles nēsātājiem ( $56,5 \pm 7,9$  vs.  $52,9 \pm 8,7$  gadi;  $t=-2,338$ ;  $p=0,020$ ). Šī atšķirība pēc MVA saglabājās tuvu statistiskai ticamībai ( $\beta=-0,040$ ;  $p=0,058$ ) un atbilda 1,3 gadu starpībai (sk. 6.2.13. diagrammu).

Līdzīga sakarība tika novērota arī Hap\*2 homozigotiem. Lai gan UVA nekonstatēja statistiski ticamas atšķirības ( $p=0,197$ ), pēc MVA tā kļuva ticama un atbilda divu gadu starpībai ( $\beta=0,042$ ;  $p=0,046$ ; sk. 6.2.14. diagrammu). No Hap\*2 komponentiem analogiska un visizteiktākā saistība bija novērojama IL-6 (-373) A9T11 alēles homozigotiem: lai gan UVA nebija statistiski ticamas atšķirības no pārējiem slimniekiem, par spīti 3,4 gadu vecuma starpībai ( $t=1,666$ ;  $p=0,096$ ), toties pēc MVA šī atšķirība kļuva nozīmīga (2 gadi,  $\beta=0,045$ ;  $p=0,034$ ). Savukārt IL-6 Hap\*1 bija tendence no gēna devas atkarīgā veidā korelēt ar agrāku KSS sākumu ( $r=-0,083$ ;  $p=0,071$ ), tomēr pēc MVA šī saistība nebija pārliecinoša ( $\beta=-0,030$ ;  $p=0,153$ ; sk. 6.2.14. diagrammu).

6.2.13. diagramma. Koronārās sirds slimības pirmo simptomu vēlāka attīstīšanās slimniekiem ar IL-1B (+3954) TT genotipu (vidējais vecums gados, pēc MVA)



6.2.14. diagramma. Koronārās sirds slimības pirmo simptomu manifestācijas vecums (gados) atkarā no Hap\*1 un Hap\*2 skaita (pēc MVA)

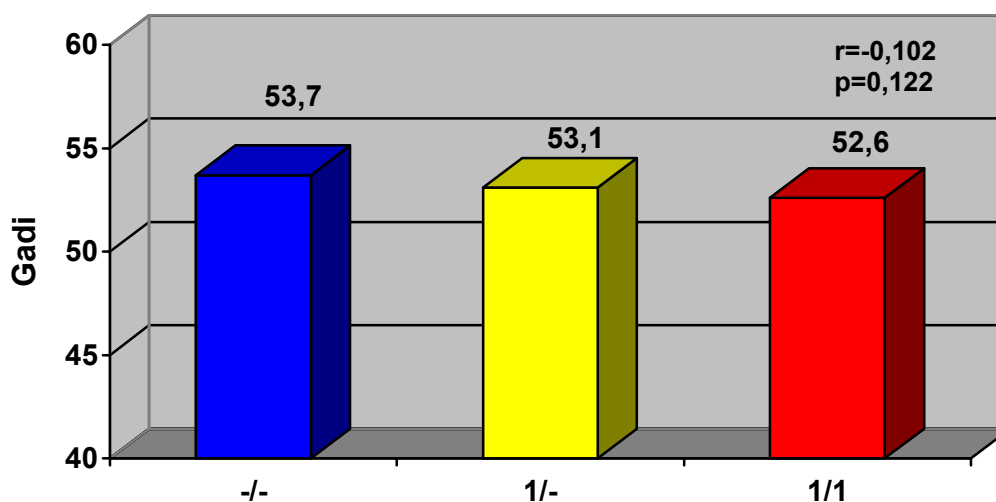


IL-6 Hap\*3 homozigotiem KSS sāka izpausties krietni (6,9 gadus) vēlāk kā pārējiem slimniekiem ( $t=2,094$ ;  $p=0,037$ ), tomēr šī starpība krietni samazinājās un nebija statistiski ticama pēc MVA (1,3 gadi;  $\beta=0,018$ ;  $p=0,400$ ).

### 6.2.8. Pirmā MI attīstības vecums

Šis kritērijs sākotnēji tika aplūkots pilotanalīzē ar mazāku slimnieku skaitu (n=193). Par rezultātiem ziņots starptautiskā konferencē (Latkovskis et al., 2004b). Galīgās statistiskās analīzes atlases kritērijiem atbilda 364 cilvēki. Lai gan UV analīzē IL-6 pirmā haplotipa kopiju skaits bija statistiski gandrīz ticami lineāri saistīts ar MI attīstību agrākā vecumā ( $r=-0,102$ ;  $p=0,052$ ), MVA šī sakarība nebija statistiski ticama ( $\beta=-0,040$ ;  $p=0,122$ ; sk. 6.2.15. diagrammu). Starp Hap\*1 raksturīgajām sastāvdaļām būtiskas atšķirības nenovēroja: (-596) A alēlei korelācija ar MI attīstības vecumu ( $\beta=0,040$ ;  $p=0,120$ ) bija līdzīga kā (-373) A8T12 ( $\beta=-0,040$ ;  $p=0,122$ ) un tikai minimāli izteiktāka nekā (-174) C alēlei ( $\beta=-0,037$ ;  $p=0,151$ ).

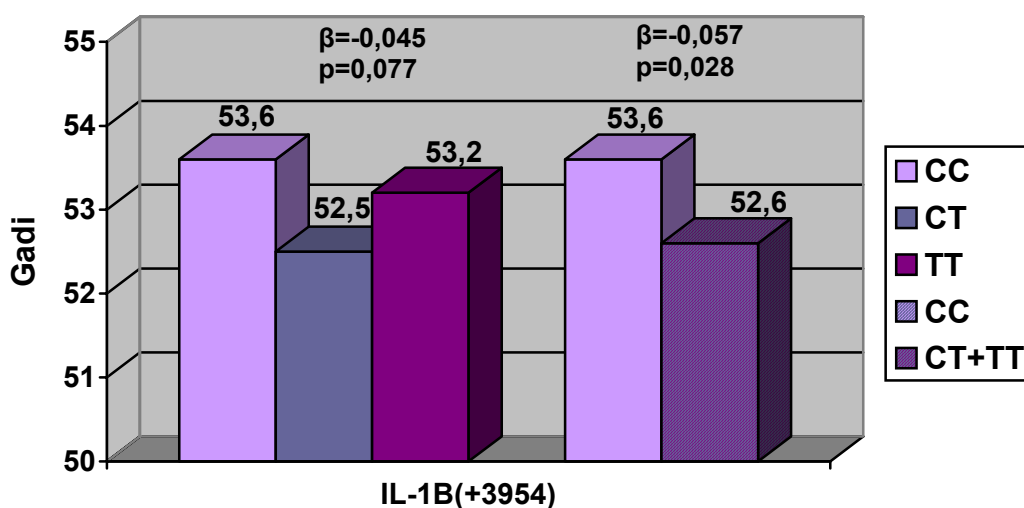
### 6.2.15. diagramma. IL-6 Hap\*1 kopiju skaits un pirmā MI attīstības vecums (MVA; n=364)



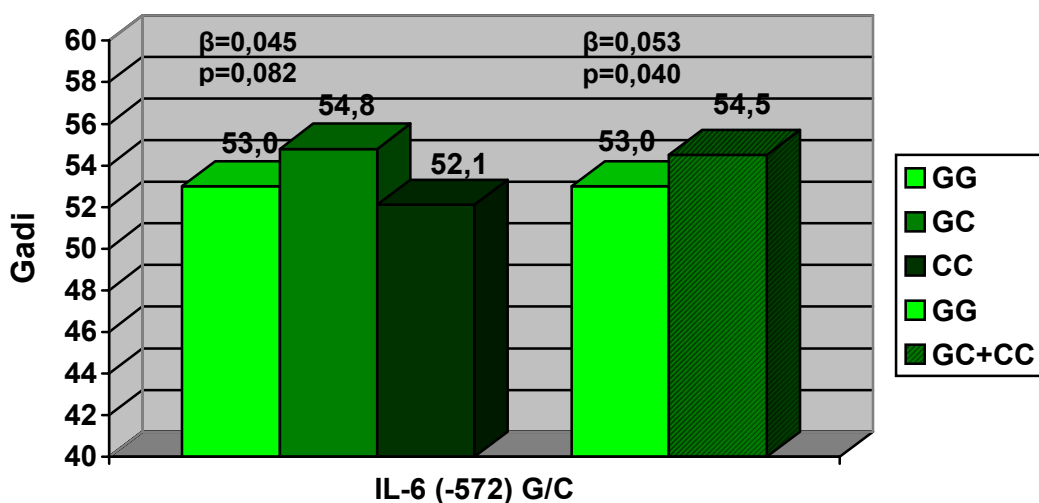
Lai gan vienmainīgajā analīzē IL-1B (+3954) un IL-6 (-572) polimorfismi nekorelēja ar pirmā MI attīstības vecumu, MV analīzē parādījās statistiski ticama saistība IL-1B (+3954) T alēles nēsātājiem ar agrāku un IL-6 (-572) C alēles nēsātājiem ar vēlāku pirmā MI attīstību (sk. 6.2.16. un 6.2.17. diagrammu). Slimniekiem ar IL-1B (+3954) T alēli (CT vai TT genotipu) pirmais MI bija attīstījies vidēji par 1 gadu agrāk kā slimniekiem ar CC genotipu: attiecīgi  $52,6 \pm 0,5$  gados un  $53,6 \pm 0,5$  gados ( $\beta=-0,057$ ;  $p=0,028$ ). Turpretim IL-6 (-572) C alēles (un 5. haplotipa) nēsātājiem (ar GC vai CC genotipu) pirmais MI bija attīstījies par 1,5 gadiem vēlāk nekā pārējiem slimniekiem, kam bija GG genotips: attiecīgi  $54,5 \pm 0,8$  un  $53,0 \pm 0,5$  gados ( $\beta=0,053$ ;  $p=0,040$ ). Jāatzīmē, ka abos gadījumos netika novērota lineāra gēna devas efekta sakarība, ko

varētu skaidrot ar alēles dominantām īpašībām un/vai samērā mazām šo alēļu homozigotu grupām – 22 slimnieki ar IL-1B(+3954) TT un trīs slimnieki ar IL-6(-572) CC genotipu.

6.2.16. diagramma. IL-1B (+3954) genotipi un pirmā MI attīstības vecums (MVA; n=364)



6.2.17. diagramma. IL-6 (-572) genotipi un pirmā MI attīstības vecums (MVA; n=364)



### **6.2.9. Miokarda infarkts anamnēzē**

No visiem 686 slimniekiem 380 gadījumos (55,4%) anamnēzē bija MI un angiogrāfiski apstiprinājās vanagartēriju stenoze >50%. Analizējot ģenētisko variāciju saistību ar MI anamnēzi visā slimnieku grupā, neviens polimorfisms vai haplotips nebija statistiski ticami saistīts ar MI, izņemot VNTR 3. alēles nēsātājiem MI bija retāki nekā pārējiem slimniekiem UVA (attiecīgi 37,0% un 62,1%; OR=0,36; p=0,009). Šī sakarība saglabājās ticama arī MVA (Exp( $\beta$ )=0,353; p=0,012), tomēr šādu personu nebija daudz (n=27; 4%), tādēļ nevar izslēgt atrades nejaušību.

### **6.3. Interleikīnu ģenētiskās variācijas un CRP līmenis**

IL ģenētisko polimorfismu saistības ar CRP līmeni analīze tika veikta divreiz. Sākumā pilotpētījums tika izdarīts, balstoties uz mazāku slimnieku skaitu (n=160) bez IL-6 haplotipu analīzes (Latkovskis et al., 2004a). Tomēr, ņemot vērā sākotnējā datu analīze bija veikta ar samērā nelielu slimnieku skaitu, atrade tika pārbaudīta atkārtoti ar lielāku slimnieku skaitu (n=624; Latkovskis et al., 2005a), kas ļāva mazināt potenciālo statistisko  $\alpha$  un  $\beta$  kļūdu varbūtību, analizēt haplotipu ietekmi, kā arī noskaidrot iespējamo mijiedarbību un atšķirības noteiktās slimnieku apakšgrupās.

#### **6.3.1. Pilotpētījuma rezultāti**

Šī analīze ietvēra 160 slimniekus (sk. 6.3.1. tabulu), kas tika atlasīti no 198 slimniekiem, lai padarītu grupu homogēniskāku un mazinātu nejaušības ietekmi uz rezultātiem, ņemot vērā samērā nelielo slimnieku parauga lielumu. Atlases un izslēgšanas kritēriji aprakstīti sadaļā *Metodes*. Visu analizēto polimorfismu genotipu sadalījums atbilda Hārdija–Veinberga līdzsvaram (sk. 6.3.2. tabulu). Tā kā IL-1RN (VNTR) polimorfisma gadījumā trim slimniekiem tika konstatēta arī retā 3. alēle, tika nolemts turpmākos aprēķinos to analizēt kopā ar 1. alēli šādu apsvērumu dēļ: (i) lai noskaidrotu tieši 2. alēles nozīmi, kas ir daudz vairāk izplatīta nekā 3. alēle, (ii) lai varētu salīdzināt rezultātus ar citiem pētījumiem (Berger et al., 2002), kuros izmantots cits šā gēna polimorfisms IL-1RN (+2018) C/T, jo (iii) IL-1RN (+2018) T alēlei ir zināma nelīdzsvarota saistība ar VNTR 2. alēli un (iv) mūsu paraugā visas 3. alēles bija saistītas ar IL-1RN (+2018) T, tāpat kā 1. alēle. Vienmainīgajās analīzēs par vērā ņemamiem nozīmīgiem neģenētiskiem faktoriem tika identificēti: smēķēšana (p<0,001),  $\text{KMI}$  (p=0,005), KH (p=0,018) un CD (p=0,056).



### 6.3.1. tabula. Pilotpētījumā ietvertu slimnieku raksturojums

Vīrieši (%)	77,5
Smēķētāji (%)	36,3
Cukura diabēts (%)	8,1
Hipertensija (%)	56,9
Vecums, gados (vidējais ± SD)	53,2 ± 7,7
ĶMI, kg x m <sup>-2</sup> (vidējais ± SD)	28,47 ± 4,02
KH, mmol/l (vidējais ± SD)	5,80 ± 1,30
CRP, mg/l (mediānais, SK)	1,70 (0,16)
Log-CRP (vidējais ± SD)	0,23 ± 0,45

### 6.3.2. tabula. Pilotpētījumā ietvertu slimnieku ģenētisko variāciju raksturojums

	Alēle	Prevalence (n)	Genotips	Prevalence (n)	P vērtība (H-W)*
IL-1B(+3954)	C	0,72 (230)	CC	0,52 (83)	0,990
	T	0,28 (90)	CT	0,40 (64)	
			TT	0,08 (13)	
IL-1B(-511)	C	0,65 (209)	CC	0,44 (70)	0,825
	T	0,35 (111)	CT	0,43 (69)	
			TT	0,13 (21)	
IL-1RN(VNTR)	1	0,72 (229)	1/1	0,51 (81)	0,998
	2	0,27 (88)	1/2	0,41 (65)	
	3	0,01 (3)	1/3	0,01 (2)	
			2/2	0,07 (11)	
			2/3	0,01 (1)	
IL-6(-174)	C	0,53 (170)	CC	0,27 (43)	0,790
	G	0,47 (150)	CG	0,52 (84)	
			GG	0,21 (33)	
IL-6(-572)	G	0,94 (301)	GG	0,88 (141)	0,598
	C	0,06 (19)	GC	0,12 (19)	

\* Salīdzinot ar sagaidāmajiem genotipiem atbilstoši Hardija-Veinberga līdzsvaram.

### *Ģenētiskie polimorfismi un CRP*

Analizējot CRP atšķirības UVA starp genotipiem ar ANOVA metodi, nozīmīgas atšķirības bija vērojamas starp IL-1B (+3954) genotipiem ( $p=0,014$ ) un IL-1RN (VNTR) genotipiem ( $p=0,048$ ). Lai precizētu, vai atrastais gēnu efekts saglabājas arī pēc tam, kad ņemti vērā neģenētiskie faktori, tika veikta MV analīze ar ANCOVA metodi, kurā tika izveidoti divi modeļi (sk. 6.3.3. tabulu). Pirmajā modelī tika iekļauts tikai viens polimorfisms un četri neģenētiskie mainīgie, lai precizētu katra polimorfisma individuālo nozīmi. Turklāt tika salīdzināti arī dažādi gēna devas modeļi – recesīvais, gēna devas efekts un dominantais. Otrajā modelī tika ievadīti abi polimorfismi vienlaikus, lai precizētu, vai tiem saglabājas ticama saistība ar CRP, ja tiek ņemts vērā arī otrs polimorfisms. Pirmajā modelī (sk. 6.3.3. tabulu) IL-1B (+3954) T alēle bija pārlicinoši saistīta ar augstāku CRP līmeni un šai alēlei bija dominants efekts ( $p=0,002$ ). Savukārt IL-1RN (VNTR) 2. alēle bija saistīta ar zemāku CRP līmeni, un bija vērojama alēles devas ietekme ( $p=0,023$ ), lai gan statistiski ticamāks bija dominantais modelis ( $p=0,009$ ). Kad modelī tika iekļauti abi polimorfismi (sk. 6.3.3. tabulu, 2.A un 2.B modelis), statistiski ticama saistība ar CRP saglabājās tikai IL-1B (+3954) T alēlei ( $p<0,05$ ), bet ne IL-1RN (VNTR) 2. alēlei ( $p>0,05$ ).

**6.3.3. tabula. C reaktīvā proteīna līmenis atkarā no IL-1B (+3954) un IL-1RN (VNTR) polimorfismiem**

Polimorfisms	Modelis*	Salīdzinātie genotipi	Log-CRP Vidējais (SK; 95% TI)	CRP <sup>†</sup> mg/l	P vērtība <sup>‡</sup>
<b>1. modelis<sup>§</sup></b>					
IL-1B (+3954)	D	CC	0,240 (0,067; 0,107-0,373)	1,74	0,002
		CT, TT	0,443 (0,067; 0,311-0,574)	2,77	
	GDE	CC	0,240 (0,068; 0,106-0,374)	1,74	0,007
		CT	0,445 (0,071; 0,304-0,585)	2,79	
		TT	0,434 (0,119; 0,198-0,670)	2,72	
	R	CC, CT	0,331 (0,062; 0,208-0,455)	2,14	0,370
		TT	0,439 (0,123; 0,197-0,682)	2,75	
IL-1RN (VNTR)	D	1/1, 1/3	0,421 (0,066; 0,290-0,552)	2,64	0,009
		1/2, 2/2, 2/3	0,252 (0,069; 0,115-0,388)	1,79	
	GDE	1/1, 1/3	0,418 (0,067; 0,287-0,550)	2,62	0,023
		1/2, 2/3	0,266 (0,071; 0,126-0,406)	1,85	
		2/2	0,148 (0,135; -0,119-0,415)	1,41	
	R	1/1, 1/2, 1/3, 2/3	0,352 (0,061; 0,232-0,472)	2,25	0,119
2/2		0,151 (0,137; -0,120-0,422)	1,42		
<b>2.A modelis<sup>¶</sup></b>					
IL-1B (+3954)	D	CC	0,253 (0,067; 0,120-0,386)	1,79	0,012
		CT, TT	0,420 (0,067; 0,287-0,553)	2,63	
IL-1RN (VNTR)	D	1/1, 1/3	0,395 (0,066; 0,265-0,526)	2,48	0,076
		1/2, 2/2, 2/3	0,277 (0,069; 0,142-0,413)	1,89	
<b>2.B modelis<sup>¶</sup></b>					
IL-1B (+3954)	D	CC	0,216 (0,074; 0,071-0,362)	1,64	0,016
		CT, TT	0,378 (0,081; 0,219-0,538)	2,39	
IL-1RN (VNTR)	GDE	1/1, 1/3	0,395 (0,066; 0,264-0,526)	2,48	0,179
		1/2, 2/3	0,285 (0,070; 0,147-0,424)	1,93	
		2/2	0,212 (0,136; -0,056-0,480)	1,63	

\* Retās alēles „gēna devas” modelis: D – dominants, GDE – gēna devas efekts, R – recesīvs.

<sup>†</sup> No vidējā Log-CRP retransformētās CRP vērtības.

<sup>‡</sup> Balstoties uz Log-CRP salīdzinājumiem.

<sup>§</sup> Faktori, kas tika iekļauti 1. modelī: smēķēšana, KMI, KH, CD, viens polimorfisms.

<sup>¶</sup> Faktori, kas tika iekļauti 2.A un 2.B modeļos: smēķēšana, KMI, KH, CD, abi polimorfismi.

### 6.3.2. Paplašinātā datu analīze

Pēc lielākas personu grupas apkopošanas tika atlasīti slimnieki pēc *Metodēs* aprakstītiem kritērijiem. Šai analīzei bija derīgi 624 slimnieki (sk. 6.3.4. tabulu), no kuriem angiogrāfiski pierādīta KAS bija 513 slimniekiem (82,2%) un 80 slimniekiem (12,8%) KSS diagnoze tika izslēgta (angiogrāfiski nebija datu par ateromu, un nebija MI anamnēzes). Pārējie slimnieki nebija skaidri klasificējami vienā vai otrā grupā (n=31; 5%).

### 6.3.4. tabula. Paplašinātās analīzes slimnieku kopas raksturojums (n=624)

---

#### **Kardiovaskulārie riska faktori**

Vīrieši (n, %)	473 (75,8)
Vecums gadi (vidējais ± SD)	55,79 ± 8,05
Smēķēšana (n, %)	183 (29,3)
Cukura diabēts (n, %)	60 (9,6)
Arteriāla hipertensija (n, %)	396 (63,5)
KH, mmol/l (vidējais ± SD)	5,55 ± 1,28
Hiperholesterinēmija* (n, %)	397 (63,3)
ĶMI, kg x m <sup>-2</sup> (vidējais ± SD)	28,40 ± 4,14
Adipozitāte <sup>†</sup> (n, %)	204 (67,3)
Agrīns MI ģimenē (n, %)	119 (19,1)

#### **KSS raksturojums**

Angiogrāfiski <sup>‡</sup>	
KSS apstiprināta (n, %)	513 (82,2)
KSS neapstiprināta (n, %)	80 (12,8)
KSS šaubīga (n, %)	31 (5,0)
Pārciests MI (n, %)	378 (60,6)

#### **Prehospitālā farmakoterapija (n, %)**

Aspirīns	531 (85,1)
Klopidogrels	31 (5,0)
Statīni	248 (39,7)
AKE inhibitori	344 (55,1)
Bēta blokatori	479 (76,8)

#### **Iekaisuma marķieri**

CRP, mg/l (mediānais, SK)	1,70 (0,16)
FG, g/l (vidējais ± SD)	3,15 ± 0,73

---

\* KH >5 mmol/l.

<sup>†</sup> ĶMI >30 kg x m<sup>-2</sup>.

<sup>‡</sup> Apstiprināta KSS – angiogrāfiski stenoze >50%, neapstiprināta KSS – angiogrāfiski nav pārliecinošu aterosklerozes pazīmju; šaubīga KSS – stenozes <50% vai iespējamās aterosklerotiskas pangas.

### *Neģenētisko faktoru saistība ar CRP*

Veicot atpakaļejošo (*backward*) multiplo lineāro regresiju, par statistiski ticami nozīmīgiem mainīgiem, kas bija saistīti ar CRP līmeni tika identificēti šādi faktori: fibrinogēns ( $\beta=0,424$ ;  $p<0,001$ ),  $\text{KMI}$  ( $\beta=0,134$ ;  $p<0,001$ ), smēķēšana ( $\beta=0,128$ ;  $p=0,001$ ), vīrieša dzimums ( $\beta=0,126$ ;  $p=0,001$ ), hipertensija ( $\beta=0,104$ ;  $p=0,004$ ) un aspirīna lietošana ( $\beta=0,085$ ;  $p=0,017$ ). Šie mainīgie tika izmantoti turpmākās MV analīzēs (multiplā lineārā un loģistiskās regresijas analīzē), izmantojot piespiedu ievadīšanas (*forced entry*) modeli.

### *Ģenētiskās variācijas un CRP*

C reaktīvā proteīna līmeņu salīdzināšana atkarā no analizētiem genotipiem un haplotipiem tika veikta, izmantojot gan logaritmiski transformētās CRP (Log-CRP) vērtības (sk. 6.3.5. tabulu), gan kategorisko mainīgo (CRP >3 mg/l; sk. 6.3.6. tabulu), neņemot (UVA) un ņemot (MVA) vērā neģenētiskos faktorus. Apmēram 1/3 slimnieku ( $n=210$ ; 33,7%) CRP bija paaugstināts (>3 mg/l). Atšķirā no pilotanalīzes papildus tika noteikti arī AnTn polimorfisms un IL-6 promotora haplotipi. Par analīzes prelimināriem rezultātiem ziņots starptautiskā konferencē (Latkovskis et al., 2005a).

### *Hap\*1 un Hap\*2*

No izplatītākajām variācijām statistiski ticami zemāks līmenis bija vismaz viena Hap\*2 nēsātājiem (UVA  $p=0,048$ ), tomēr MVA šīs sakarības ticamība izzuda ( $p=0,063$ ). Otrkārt, UVA tika novērota lineāra saistība starp Hap\*1 skaitu un augstāku CRP līmeni ( $p=0,061$ ), taču arī tā MVA zaudēja statistisko ticamību (retransformētās vidējās CRP vērtības attiecīgi 1,53 mg/l, 1,56 mg/l un 1,82 mg/l;  $p=0,123$ ; sk. 6.3.5. tabulu un 6.3.1. diagrammu), lai gan homozigotiem, salīdzinot pārējiem slimniekiem, bija vērojama statistiskas ticamības tendence gan UVA ( $p=0,055$ ), gan MVA ( $p=0,073$ ). Padziļināti analizējot CRP līmeni atkarā no šo haplotipu skaita, tika novērots, ka slimniekiem ar vismaz vienu Hap\*2 bija zemāks CRP līmenis nekā slimniekiem ar nevienu vai diviem Hap\*2 (sk. 6.3.5. tabulu un 6.3.1. diagrammu). Retransformētās CRP vērtības slimniekiem bez Hap\*2, ar vienu un abiem Hap\*2 attiecīgi bija 1,71 mg/l, 1,45 mg/l un 1,69 mg/l. Analogiskas, bet Hap\*1 gadījumā statistiski pārliecinošas sakarības, novēroja, salīdzinot slimniekus ar paaugstinātu CRP (>3 mg/l; sk. 6.3.6. tabulu un 6.3.2. diagrammu). Hap\*1 homozigotu būtiskā atšķirība no pārējiem slimniekiem gan UV ( $p=0,019$ ), gan MV analīzē ( $p=0,016$ ) liecina par šī haplotipa recesīvo ietekmi.

6.3.5. tabula. C reaktīvā proteīna (log-transformēto vērtību) salīdzinājums atkarā no IL ģenētiskajām variācijām (n=624)

	Modelis*	N	Vienmainīgā analīze				Daudzmainīgo analīze <sup>†</sup>		
			Log-CRP (vidējais±SD)	R <sup>2</sup>	t vērtība	p vērtība	Log-CRP (vidējais±SK)	β koeficients	p vērtība
<b>IL-1B (-511) C/T</b>									
CC	GDE	279	0,289±0,468	-0,038	-	0,347	0,226±0,033	-0,031	0,379
CT		282	0,261±0,462				0,119±0,033		
TT		63	0,237±0,485				0,186±0,057		
CC+CT (vs. TT)	D (C)	561	0,275±0,465	-	-0,619	0,536	0,212±0,028	0,017	0,633
CT+TT (vs. CC)	D (T)	345	0,257±0,466	-	0,864	0,388	0,197±0,031	-0,031	0,384
<b>IL-1B (+3954) C/T</b>									
CC	GDE	367	0,270±0,463	0,018	-	0,657	0,220±0,030	-0,002	0,952
CT		216	0,260±0,464				0,184±0,036		
TT		41	0,339±0,518				0,280±0,069		
CC+CT (vs. TT)	D (C)	583	0,266±0,463	-	0,971	0,332	0,207±0,027	-0,039	0,272
CT+TT (vs. CC)	D (T)	257	0,273±0,473	-	-0,068	0,946	0,197±0,034	-0,022	0,530
<b>IL-1RN (VNTR)</b>									
<i>IL-1RN(VNTR)*1</i>									
-/-	GDE	59	0,272±0,454	0,011	-	0,785	0,221±0,058		
1/-		276	0,263±0,494				0,200±0,032		
1/1		289	0,279±0,444				0,280±0,069		
Vismaz viena *1	D (*1)	564	0,272±0,467	-	-0,102	0,918	0,210±0,028	-0,002	0,956
Nav 1/1	R (*1)	335	0,265±0,486	-	-0,369	0,712	0,196		
<i>IL-1RN(VNTR)*2</i>									
-/-	GDE	304	0,284±0,442	-0,027	-	0,496	0,219±0,032		
2/-		274	0,260±0,500				0,204±0,032		
2/2		46	0,250±0,431				0,193±0,065		
Vismaz viena *2	D	320	0,259±0,490	-	0,681	0,496	0,202±0,031	-0,018	0,610
Nav 2/2	R	578	0,273±0,470	-	0,325	-0,369			
<i>IL-1RN(VNTR)*3</i>									
-/-	D	597	0,266±0,467	-	-1,400	0,162	0,206±0,028	0,034	0,341
3/-		27	0,394±0,455				0,283±0,081		

**6.3.5. tabulas turpinājums.**

<b>IL-6 (-596) G/A</b>										
AA	GDE	147	0,333±0,481	-0,069	-	0,087	0,259±0,039	-0,052	0,141	
AG		331	0,258±0,472				0,192±0,032			
GG		146	0,240±0,438				0,188±0,041			
AA+AG (vs. GG)	D (A)	478	0,281±0,475	-	1,841	0,066	0,216±0,029	0,022	0,525	
AG+GG (vs. AA)	D (G)	477	0,252±0,461	-	-0,932	0,352	0,191±0,030	-0,062	0,081	
<b>IL-6 (-572) G/A</b>										
GG	GDE	550	0,270±0,470	0,002	-	0,963	0,210±0,028	0,002	0,958	
GC		71	0,282±0,430				0,216±0,053			
CC		3	0,175±0,908				0,173±0,238			
GG+GC (vs. CC)	D (G)	621	0,272±0,465	-	-0,359	0,720	0,210±0,027	0,006	0,874	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	74	0,278±0,448	-	-0,126	0,839	0,214±0,052	0,003	0,929	
<b>IL-6 (-373) AnTn</b>										
<i>A8T12 (*1)</i>										
-/-	GDE	149	0,234±0,438	0,075	-	0,661	0,186±0,041	0,054	0,123	
1/-		330	0,259±0,471				0,192±0,032			
1/1		145	0,334±0,482				0,260±0,040			
Vismaz viena *1	D	475	0,283±0,475	-	-1,109	0,268	0,216±0,029	0,025	0,483	
Nav 1/1 (vs.	R	479	0,251±0,461	-	1,926	0,055	0,190±0,029	-0,064	0,073	
<i>A9T11 (*2)</i>										
-/-	GDE	391	0,302±0,474	-0,068	-	0,262	0,234±0,030	-0,058	0,105	
2/-		205	0,209±0,440				0,161±0,036			
2/2		28	0,293±0,523				0,215±0,083			
Vismaz viena *2	D	233	0,219±0,451	-	2,153	<b>0,032<sup>§</sup></b>	0,166±0,035	0,070	<b>0,049</b>	
Nav 2/2	R	596	0,270±0,464	-	0,797	0,257	0,210±0,027	-0,003	0,928	
<i>A10T11 (*3)</i>										
-/-	GDE	449	0,286±0,467	-0,045	-	0,262	0,221±0,029	-0,024	0,494	
3/-		159	0,228±0,478				0,164±0,039			
3/3		16	0,274±0,336				0,323±0,105			
Vismaz viena *3	D	175	0,232±0,466	-	1,294	0,196	0,179±0,038	-0,041	0,240	
Nav 3/3	R	608	0,271±0,470	-	0,026	0,979	0,207±0,027	-0,040	0,262	

### 6.3.5. tabulas turpinājums.

<i>A10T10 (*4)</i>										
-/-	GDE	466	0,270±0,478	-0,003	-	0,932	0,208±0,029	-0,009	0,792	
4/-		149	0,283±0,422				0,222±0,039			
4/4		9	0,143±0,587				0,026±0,139			
Vismaz viena *4	D	158	0,275±0,432	-	-0,134	0,894	0,213±0,039	0,003	0,935	
Nav 4/4	R	615	0,273±0,465	-	-0,830	0,407	0,212±0,027	0,047	0,177	
<i>A9T12 (*5)</i>										
-/-	GDE	615	0,265±0,465	-	-	-	0,205±0,027	-	-	
5/-		9	0,683±0,446				0,610±0,137			
5/5		-					-			
Vismaz viena *5	D	9	0,683±0,446	-	-2,682	<b>0,008</b>	0,610±0,137	0,104	<b>0,003</b>	
Nav 5/5	R	-	-	-	-	-				
<b>IL-6 (-174) G/C</b>										
GG	GDE	144	0,237±0,436	0,067	-	0,093	0,187±0,041	0,050	0,157	
GC		331	0,260±0,473				0,194±0,032			
CC		149	0,329±0,479				0,255±0,039			
GG+GC (vs. CC)	D (G)	475	0,253±0,462	-	1,729	0,084	0,192±0,030	-0,057	0,106	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	480	0,281±0,476	-	-0,987	0,324	0,216±0,029	0,023	0,507	
<b>IL-6 haplotipi</b>										
<i>Hap*1</i>										
-/-	GDE	149	0,234±0,438	0,075	-	0,061	0,186±0,041	0,054	0,123	
1/-		330	0,259±0,471				0,192±0,032			
1/1		145	0,336±0,482				0,260±0,040			
Vismaz viens *1	D	475	0,283±0,475	-	-1,109	0,268	0,216±0,029	0,025	0,483	
Nav 1/1	R	479	0,251±0,461	-	1,926	0,055	0,190±0,029	-0,064	0,073	
<i>Hap*2</i>										
-/-	GDE	397	0,299±0,474	-0,060	-	0,132	0,232±0,030	-0,053	0,135	
2/-		202	0,210±0,437				0,161±0,036			
2/2		25	0,318±0,545				0,229±0,087			
Vismaz viens *2	D	227	0,222±0,450	-	1,985	<b>0,048</b>	0,167±0,036	-0,066	0,063	
Nav 2/2	R	599	0,269±0,464	-	0,510	0,610	0,210±0,027	-0,009	0,803	



### 6.3.5. tabulas turpinājums.

<i>Hap*3</i>										
-/-	GDE	449	0,286±0,467	-0,045	-	0,262	0,221±0,029	-0,024	0,494	
3/-		159	0,228±0,478				0,164±0,039			
3/3		16	0,274±0,336				0,323±0,104			
Vismaz viens *3	D	175	0,232±0,466	-	1,294	0,196	0,179±0,038	-0,041	0,240	
Nav 3/3	R	608	0,271±0,470	-	0,026	0,979	0,207±0,027	-0,040	0,262	
<i>Hap*4</i>										
-/-	GDE	538	0,272±0,474	-0,006	-	0,878	0,210±0,028	-0,014	0,697	
4/-		82	0,269±0,414				0,213±0,050			
4/4		4	0,209±0,576				-0,015±0,206			
Vismaz viens *4	D	86	0,266±0,419	-	0,103	0,918	0,204±0,049	-0,006	0,871	
Nav 4/4	R	620	0,272±0,467	-	-0,265	0,791	0,211±0,027	0,039	0,273	
<i>Hap*5</i>										
-/-	GDE	550	0,270±0,469	0,002	-	0,963	0,210±0,028	0,002	0,958	
5/-		71	0,282±0,430				0,216±0,053			
5/5		3	0,175±0,908				0,173±0,237			
Vismaz viens *5	D	74	0,278±0,448	-	-0,126	0,899	0,214±0,052	0,003	0,929	
Nav 5/5	R	621	0,272±0,465	-	-0,359	0,720	0,210±0,027	0,006	0,874	
<i>Hap*6</i>										
-/-	D	615	0,265±0,465	-	-2,682	<b>0,008</b>	0,205±0,027	0,104	<b>0,003</b>	
6/-		9	0,683±0,446				0,610±0,137			
<i>Hap*7</i>										
-/-	D	620	0,272±0,467	-	0,275	0,783	0,211±0,027	-0,018	0,613	
7/-		4	0,207±0,504				0,107±0,206			
<i>Hap*8</i>										
-/-	D	619	0,273±0,467	-	1,241	0,215	0,210±0,027	-0,018	0,604	
8/-		5	0,013±0,362				0,115±0,186			

\* “Gēna devas” modelis: D – dominants, GDE – gēna devas efekts, R – recesīvs.

† Modelī iekļautie mainīgie: fibrinogēns, KMI, smēķēšana, dzimums, arteriālā hipertensija, aspirīna lietošana un ģenētiskā variācija.

‡ Pīrsona korelācija.

§ Ar treknēm burtiem atzīmēti statistiski ticamie rezultāti (p<0,05).

6.3.6. tabula. Paaugstināta CRP līmeņa (>3 mg/l) sastopamības biežums atkarā no ģenētiskajām variācijām (n=624)

	Modelis*	N	%*	Vienmainīgā analīze			Daudzmainīgo analīze <sup>†</sup>	
				R (Spearman)	OR	P vērtība	Exp(β)	P vērtība
<b>IL-1B (-511) C/T</b>								
CC	GDE	105/279	37,6%	-0,073	-	0,069	0,795	0,115
CT		86/282	30,5%					
TT		19/63	30,2%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	191/561	34,0%	0,025	1,195	0,632	1,117	0,729
CT+TT (vs. CC)	D (T)	105/345	30,4%	-0,076	0,725	0,071	0,707	0,064
<b>IL-1B (+3954) C/T</b>								
CC	GDE	118/367	32,2%	0,049	-	0,219	1,189	0,242
CT		73/216	33,8%					
TT		19/41	46,3%					
CC+CT (vs. TT)	D (C)	191/583	32,8%	-0,071	0,564	0,108	0,525	0,070
CT+TT (vs. CC)	D (T)	92/257	35,8%	-0,076	1,177	0,389	1,107	0,590
<b>IL-1RN (VNTR)</b>								
<i>IL-1RN(VNTR)*1</i>								
-/-	GDE	22/59	37,3%	0,020	-	0,610	1,046	0,752
1/-		86/276	31,2%					
1/1		102/289	35,3%					
Vismaz viena *1	D (*1)	188/564	33,3%	-0,021	0,864	0,707	0,777	0,415
Nav 1/1	R (*1)	10,8/335	32,2%	-0,032	1,146*	0,471	1,194*	0,342
<i>IL-1RN(VNTR)*2</i>								
-/-	GDE	108/304	35,5%	-0,030	-	0,462	0,941	0,684
2/-		85/274	31,0%					
2/2		17/46	37,0%					
Vismaz viena *2	D	102/320	31,9%	-0,039	0,849	0,379	0,851	0,385
Nav 2/2	R	193/578	33,4%	-0,020	1,169*	0,741	1,276*	0,487
<i>IL-1RN(VNTR)*3</i>								
-/-	D	199/597	33,3%	0,032	1,375	0,556	1,178	0,709
3/-		11/27	40,7%					

**6.3.6. tabulas turpinājums.**

<b>IL-6 (-596) G/A</b>									
AA	GDE	61/147	41,5%	-0,097	-	<b>0,015</b>	0,723	<b>0,020</b>	
AG		108/331	32,6%						
GG		41/146	28,1%						
AA+AG (vs. GG)	D (A)	169/478	35,4%	0,065	1,401	0,127	1,392	0,144	
AG+GG (vs. AA)	D (G)	149/477	31,2%	-0,092	0,640	<b>0,028</b>	0,606	<b>0,021</b>	
<b>IL-6 (-572) G/A</b>									
GG	GDE	184/550	33,5%	0,011	-	0,776	1,083	0,766	
GC		25/71	35,2%						
CC		1/3	33,3%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	209/321	33,7%	<0,0001	1,015	1,000	0,944	0,967	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	26/74	35,1%	0,110	1,077	0,876	1,091	0,760	
<b>IL-6 (-373) AnTn</b>									
<i>A8T12 (*1)</i>									
-/-	GDE	41/149	27,5%	0,105	-	<b>0,008</b>	1,412	<b>0,013</b>	
1/-		108/330	32,7%						
1/1		61/145	42,1%						
Vismaz viena *1	D	169/475	35,6%	0,073	1,455	0,086	1,432	0,112	
Nav 1/1 (vs.	R	149/479	31,1%	-0,098	1,608*	<b>0,019</b>	1,694*	<b>0,016</b>	
<i>A9T11 (*2)</i>									
-/-	GDE	147/391	37,6%	-0,095	-	<b>0,017</b>	0,739	0,069	
2/-		51/205	24,9%						
2/2		12/28	42,9%						
Vismaz viena *2	D	63/233	27,0%	-0,108	0,615	<b>0,009</b>	0,597	<b>0,010</b>	
Nav 2/2	R	198/596	33,2%	-0,042	1,508*	0,395	1,516*	0,333	
<i>A10T11 (*3)</i>									
-/-	GDE	158/449	35,2%	-0,056	-	0,166	0,779	0,186	
3/-		49/159	30,8%						
3/3		3/16	18,8%						
Vismaz viena *3	D	52/175	29,7%	-0,052	0,779	0,228	0,773	0,222	
Nav 3/3	R	207/608	34,0%	0,051	0,447*	0,312	0,573*	0,420	

**6.3.6. tabulas turpinājums.**

<i>A10T10 (*4)</i>									
-/-	GDE	159/466	34,1%	-0,017	-	0,677	0,902	0,601	
4/-		101/149	32,2%						
4/4		6/9	33,3%						
Vismaz viena *4	D	51/158	32,3%	-0,017	0,920	0,744	0,907	0,650	
Nav 4/4	R	207/615	33,7%	0,001	0,986*	1,000	0,716*	0,673	
<i>A9T12 (*5)</i>									
-/-	D	204/615	33,2%	0,085	4,029	0,067	4,631	<b>0,037</b>	
5/-		6/9	66,7%						
5/5		0	-						
<b>IL-6 (-174) G/C</b>									
GG	GDE	40/144	27,8%	0,096	-	<b>0,017</b>	1,370	<b>0,023</b>	
GC		109/331	32,9%						
CC		61/149	40,9%						
GG+GC (vs. CC)	D (G)	149/475	31,4%	-0,086	0,659	<b>0,040</b>	0,629	<b>0,032</b>	
GC+CC (vs. GG)	D (C)	170/480	35,4%	0,068	1,426	0,109	1,412	0,130	
<b>IL-6 haplotipi</b>									
<i>Hap*1</i>									
-/-	GDE	41/149	27,5%	0,105	-	<b>0,008</b>	1,412	<b>0,013</b>	
1/-		108/330	32,7%						
1/1		61/145	42,1%						
Vismaz viens *1	D	169/475	35,6%	0,073	1,455	0,086	1,432	0,112	
Nav 1/1	R	149/479	31,1%	-0,098	1,608*	<b>0,019</b>	1,694*	<b>0,016</b>	
<i>Hap*2</i>									
-/-	GDE	148/397	37,3%	-0,087	-	<b>0,029</b>	0,765	0,112	
2/-		50/202	24,8%						
2/2		12/25	48,0%						
Vismaz viens *2	D	62/227	27,3%	-0,101	0,632	<b>0,014</b>	0,610	<b>0,013</b>	
Nav 2/2	R	198/599	33,1%	-0,062	1,689*	0,182	1,899*	0,151	

### 6.3.6. tabulas turpinājums.

<i>Hap*3</i>									
-/-	GDE	158/449	35,2%	-0,056	-	0,166	0,779	0,186	
3/-		49/159	30,8%						
3/3		3/61	18,8%						
Vismaz viens *3	D	52/175	29,7%	-0,052	0,632	0,228	0,773	0,222	
Nav 3/3	R	207/608	34,0%	0,051	0,447*	0,312	0,573*	0,420	
<i>Hap*4</i>									
-/-	GDE	133/382	34,8%	-0,038	-	0,348	0,784	0,344	
4/-		75/238	31,5%						
4/4		2/4	50,0%						
Vismaz viens *4	D	25/86	29,1%	-0,039	0,782	0,398	0,748	0,299	
Nav 4/4	R	208/620	33,5%	-0,028	1,981*	0,606	1,091*	0,938	
<i>Hap*5</i>									
-/-	GDE	184/550	33,5%	0,011	-	0,776	1,083	0,766	
5/-		25/71	35,2%						
5/5		1/3	33,3%						
Vismaz viens *5	D	26/74	35,1%	0,011	1,077	0,876	1,091	0,760	
Nav 5/5	R	209/621	33,7%	<0,001	0,986	1,000	1,059*	0,967	
<i>Hap*6</i>									
-/-	D	204/615	33,2%	0,085	4,029	0,067	4,631	<b>0,037</b>	
6/-		6/9	66,7%						
<i>Hap*7</i>									
-/-	D	209/620	33,7%	-0,015	0,656	1,000	0,515	0,584	
7/-		1/4	25,0%						
<i>Hap*8</i>									
-/-	D	210/619	33,9%	-0,064	-	0,174	<0,0001	0,999	
8/-		0/5	0						

\* „Gēna devas” modelis: GDE – gēna devas efekts, D – dominants, R – recesīvs.

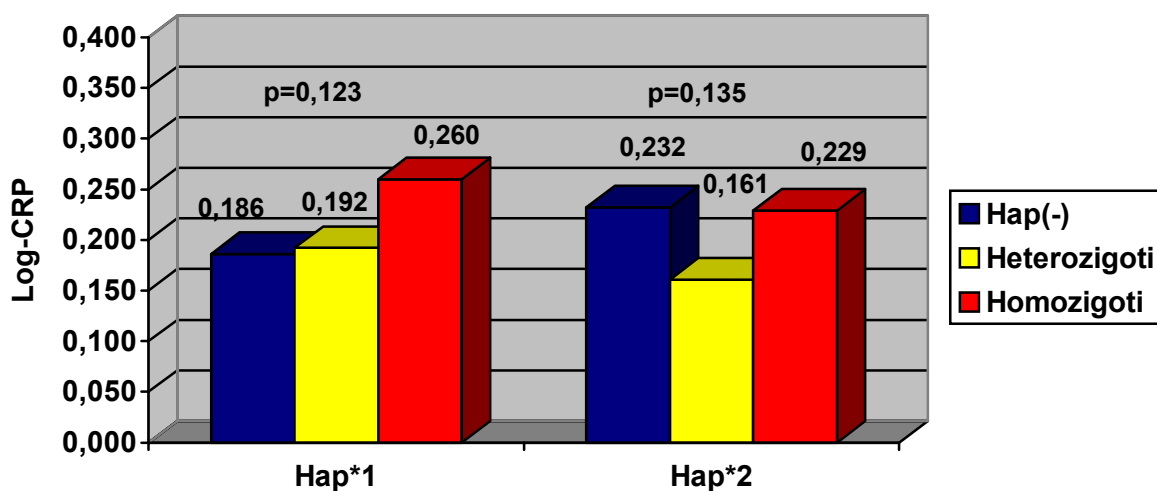
† Slimnieki ar nestabilu gaitu no visiem slimniekiem ar attiecīgu genotipu.

‡ Modelī iekļautie mainīgie: fibrinogēns, KMI, smēķēšana, dzimums, arteriālā hipertensija, aspirīna lietošana un ģenētiskā variācija.

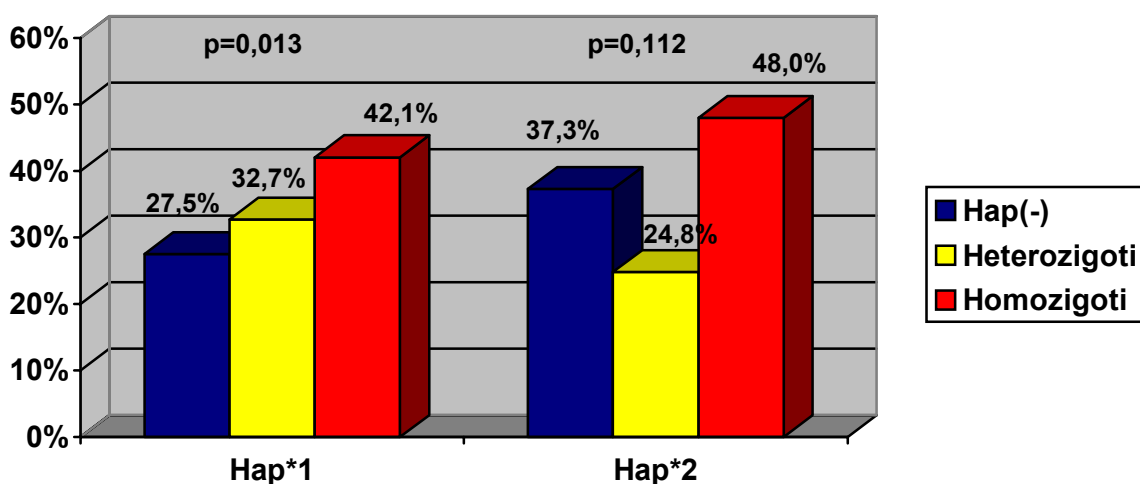
§ Homozigotu OR vai Exp( $\beta$ ), salīdzinot ar pārējiem slimniekiem.

¶ Ar trekniem burtiem atzīmēti statistiski ticamie rezultāti ( $p < 0,05$ ).

6.3.1. diagramma. Log-CRP atkarā no 1. un 2. haplotipa skaita (pēc MVA)



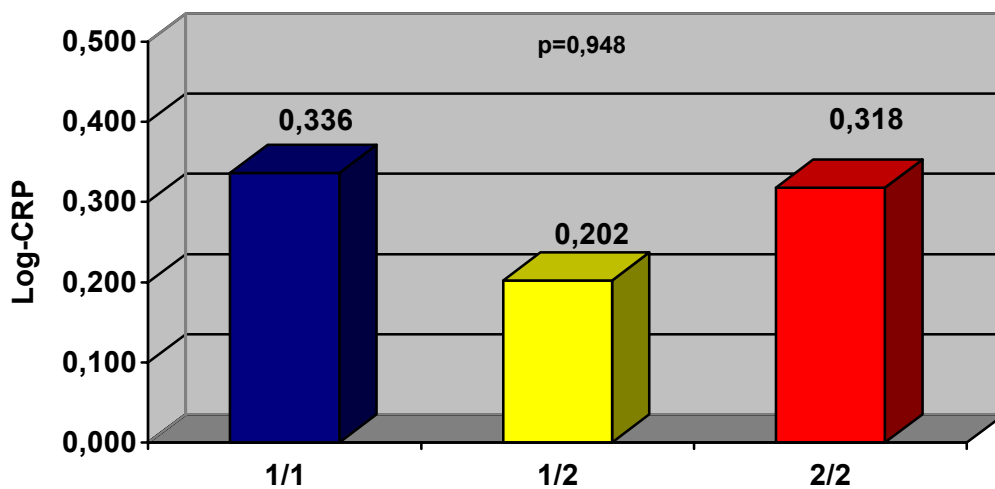
6.3.2. diagramma. Augsts CRP (>3 mg/l) atkarā no 1. un 2. haplotipa skaita (pēc MVA)



Lai gan Hap\*2 klātie no statistiskā viedokļa bija nozīmīgi saistīta ar zemāku CRP, tā nelineārajai saistībai ar CRP līmeni tika pieļauti vairāki iespējamie skaidrojumi (sk. diskusiju). No visiem slimniekiem, kas bija Hap\*2 heterozigoti (n=202), tikai 127 gadījumos (62,9%) otrs bija Hap\*1. Lai noskaidrotu Hap\*2 ietekmi uz CRP uz Hap\*1 fona, tika analizēti 297 slimnieki, kas bija tikai Hap\*1 vai Hap\*2 nēsātāji.

Tāpat kā visā kopā, arī šai apakšgrupā netika iegūta lineāra sakarība starp Hap\*2 skaitu un CRP līmeni ( $p=0,948$ ; sk. 6.3.3. diagrammu), kas norādīja, ka Hap\*2 saistība ar zemāku CRP nav izskaidrojama ar Hap\*2 heterozigotiem, kas nav Hap\*1 nēsātāji (2/3, 2/4 u.c.). Slimnieku apakšgrupās ar KSS un bez KSS abiem haplotipiem tika novērotas līdzīgas sakarības, lai gan mazo grupu dēļ statistiskā ticamība mazinājās.

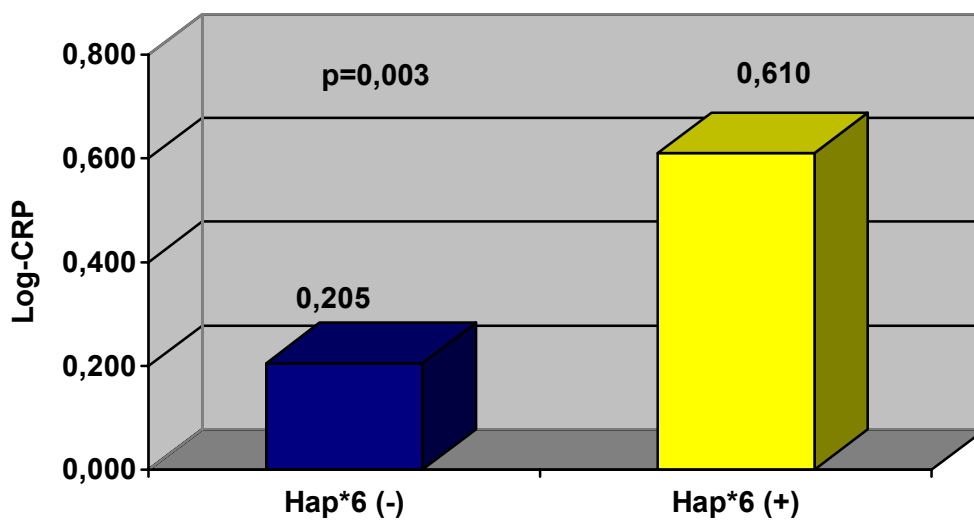
**6.3.3. diagramma. CRP līmenis (Log-CRP) slimniekiem tikai ar 1. un/vai 2. haplotipu: 1/1 (n=145), 1/2 (n=127), 2/2 (n=25)**



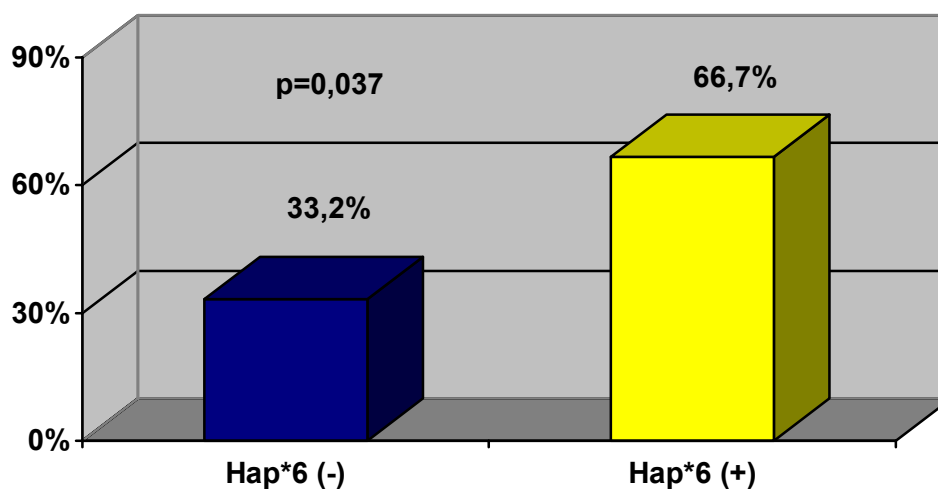
*6. haplotips un A9T12 alēle*

No visiem polimorfismiem unifaktoriālā analizē statistiski visticamākā saistība ar CRP līmeni bija vērojama slimniekiem ar 6. haplotipu ( $n=9$ ; sk. 6.3.5. tabulu), no kuriem visi bija arī vienīgie A9T12 alēles nēsātāji šai paraugā. Šīm personām (visi tikai heterozigoti), CRP līmenis bija krietni augstāks (sk. 6.3.4. diagrammu) nekā slimniekiem bez Hap\*6 (retransformētās CRP vērtības attiecīgi 4,78 mg/l un 1,86 mg/l;  $p=0,008$ ). Kad tika veikta MV analīze ar multiplo lineāro regresiju, Hap\*6 saistība ar augstu CRP līmeni kļuva tikai nozīmīgāka: retransformētais CRP bija vidēji 4,07 mg/l Hap\*6 nēsātājiem, salīdzinot ar 1,60 mg/l pārējiem slimniekiem ( $p=0,003$ ). Šai ģenētiskajā apakšgrupā paaugstinātu CRP ( $>3$  mg/l) novēroja divreiz biežāk nekā pārējiem slimniekiem (attiecīgi 66,7% vs 33,2%;  $OR=4,03$ ;  $p=0,067$ ; sk. 6.3.6. tabulu un 6.3.5. diagrammu), kas MV analizē kļuva statistiski ticami ( $Exp(\beta)=4,631$ ;  $p=0,037$ ). Tomēr nevar izslēgt, ka Hap\*6 (A9T12) saistība ar CRP ir nejausa pārāk mazās šādu slimnieku apakšgrupas dēļ.

6.3.4. diagramma. Log-CRP atkarā no 6. haplotipa klātienes (pēc MVA)



6.3.5. diagramma. Slimnieki ar CRP>3 mg/l atkarā no 6. haplotipa klātienes (pēc MVA)





### *AnTn polimorfisma nozīme*

Lai noskaidrotu izolētu AnTn polimorfisma ietekmi uz CRP līmeni, ja tiek ņemti vērā arī pārējie promotora haplotipu komponenti, CRP līmenis tika salīdzināts starp haplotipiem \*2, \*3, \*4 un \*6, kas visi satur G alēli -596, -572 un -174 pozīcijā, bet atšķiras tikai ar AnTn attiecīgi šādā veidā: 9/11, 10/11/, 10/10 un 9/12.

Pēc literatūrā aprakstītas metodes (*Kelberman et al.*, 2004a) šim nolūkam tika atlasīti 279 heterozigotiski slimnieki, kas visi bija Hap\*1 nēsātāji un attiecīgi Hap\*2 (n=127; 45,5%), Hap\*3 (n=92; 33,0%), Hap\*4 (n=53; 19,0%) vai Hap\*6 (n=7; 2,5%) nēsātāji, proti, ar haplotipu kombinācijām 1/2, 1/3, 1/4 un 1/6. Tāpēc viens haplotips visiem slimniekiem bija identisks, bet otrs atšķīrās tikai AnTn pozīcijā. Slimniekiem ar A9T12 bija statistiski ticami augstāks log-CRP (retransformētais CRP 5,82 mg/l), salīdzinot ar visiem pārējiem haplotipu variantiem (log-CRP salīdzinājumu sk. 6.3.6. diagrammā): A9T11 (1,59 mg/l; p=0,002), A10T11 (1,93 mg/l; p=0,010) un A10T10 (1,74 mg/l; p=0,006). Statistiski ticams rezultāts saglabājās arī tad, ja rezultāti tika koriģēti, ņemot vērā multiplo salīdzināšanu ar Takija HSD metodi (p vērtība attiecīgi: 0,012; 0,048 un 0,002). Starp A9T11, A10T11 un A10T10 savstarpēji statistiski ticamas CRP atšķirības netika novērotas.

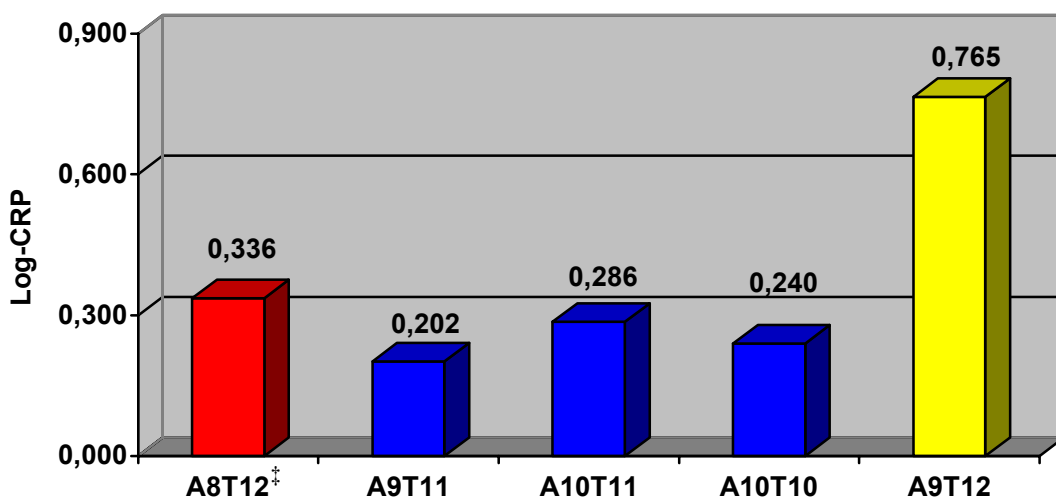
Salīdzinot Hap\*1 raksturīgo A8T12 alēli (kas ir stipri nelīdzsvaroti saistīta arī ar -174C un -596A alēli) ar pārējām AnTn alēlēm, statistiski ticamas atšķirības tika konstatētas ar A9T12 (p=0,020) un A9T11 (p=0,020) alēli (sk. 6.3.6. diagrammu).

MVA tika veikta, lietojot divus modeļus – iekļaujot Hap\*1 homozigotus un bez tiem – šādu apsvērumu dēļ:

1. lai salīdzinātu izolēto AnTn ietekmi starp retākajiem variantiem;
2. A8T12 ietekmi uz CRP nav iespējams nodalīt no -596A un -174C;
3. MVA koriģētās vidējās log-CRP vērtības atkarīgas no modelī ievadīto haplotipu skaita.

Veicot MVA bez Hap\*1 homozigotiem (proti, ar visiem AnTn variantiem, izņemot biežāko A8T12), AnTn četri varianti kopā ar sešiem neģenētiskajiem faktoriem ļoti nozīmīgi prognozēja CRP līmeni (F=5,137; p=0,002), saglabājoties līdzīgām atšķirībām starp alēlēm (sk. 6.3.7. diagrammu). Starp A9T12 un pārējiem trim variantiem starpība bija statistiski ticama (A9T11, p=0,0001; A10T11, p=0,0003; A10T10, p=0,0004) (ar Bonferoni korekciju: p attiecīgi 0,001; 0,002 un 0,003). Starp pārējām alēlēm (A9T11, A10T11 un A10T10) savstarpēju nozīmīgu atšķirību nebija (p>0,05).

6.3.6. diagramma. Log-CRP vidējās vērtības atkarā no AnTn variantiem (UVA)<sup>\*,†</sup>

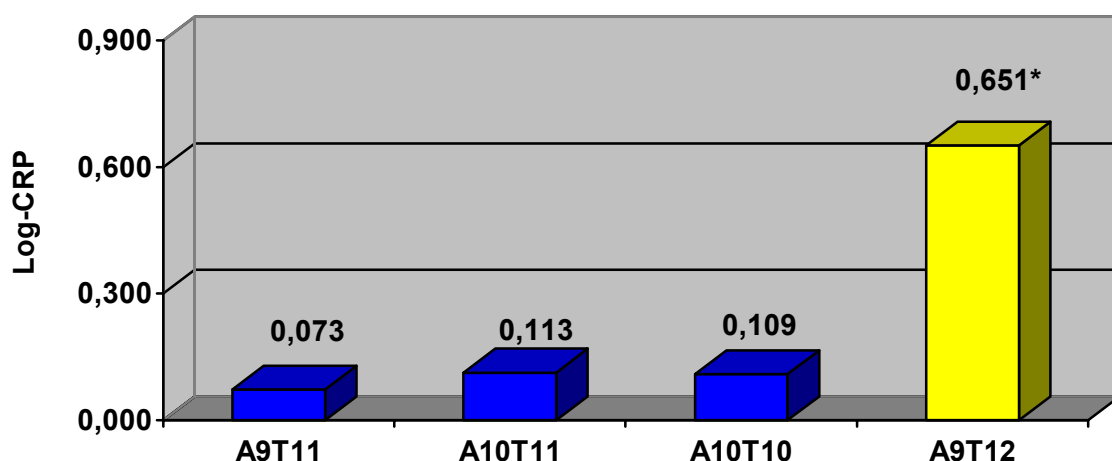


\* Visiem slimniekiem otrs bija Hap\*1 - atlasīti slimnieki ar 1/1 (n=145), 1/2 (n=127), 1/3 (n=92), 1/4 (n=53) un 1/6 (n=7) haplotipiem.

† Atbilstošās retransformētas CRP vērtības un statistiskās p vērtības sk. tekstā.

‡ Personām ar A8T12 alēli atšķiras arī SNP polimorfismi -174 un -596 pozīcijā.

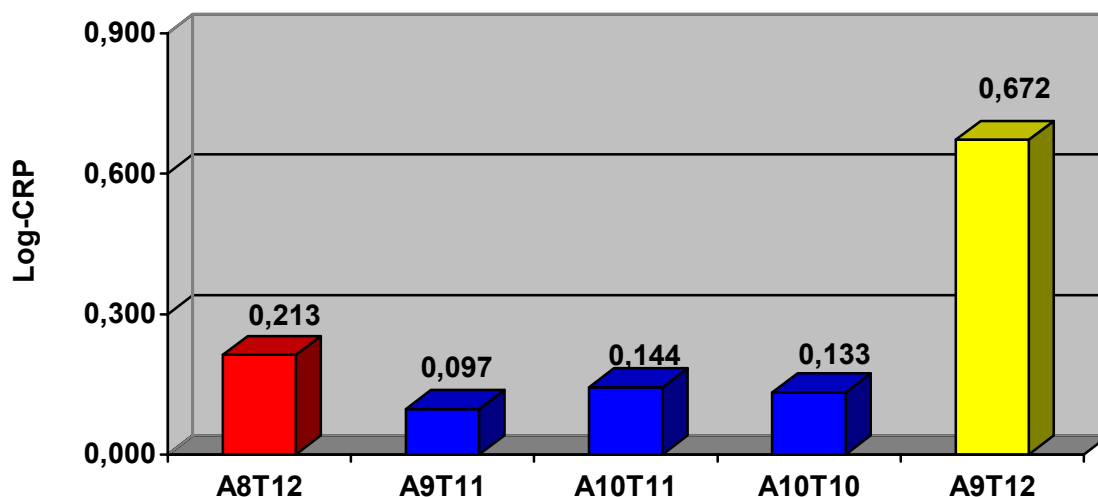
6.3.7. diagramma. Log-CRP salīdzinājums slimniekiem ar 1/2, 1/3, 1/4 un 1/6 haplotipu variantiem (MVA)



\*  $p < 0,001$  - salīdzinot A9T12 ar katru no pārējām AnTn alēlēm (MVA). Atbilstošās retransformētas CRP vērtības attiecīgi: 1,18 mg/l, 1,30 mg/l, 1,28 mg/l un 4,48 mg/l.

Iekļaujot MVA arī Hap\*1 homozigotus, statistiski nozīmīgas atšķirības bija vērojamas starp A9T12 un ar katru no pārējām alēlēm: A8T12 ( $p=0,004$ ), A9T11 ( $p=0,0003$ ), A10T11 ( $p=0,001$ ) un A10T10 ( $p=0,001$ ; sk. 6.3.8. diagrammu). No citām alēlēm statistiski nozīmīga atšķirība bija tikai starp A8T12 un A9T11 ( $p=0,022$ ).

**6.3.8. diagramma. AnTn četru reto variantu log-CRP vidējās vērtības salīdzinājums ar biežāko A8T12 alēli (MVA)<sup>\*†</sup>**



\*  $p<0,01$  - salīdzinot A9T12 ar visām pārējām alēlēm;  $p<0,05$  – salīdzinot A8T12 ar A9T11.

† Atbilstošās retransformētās CRP vērtības attiecīgi: 1,63 mg/l, 1,25 mg/l, 1,39 mg/l, 1,36 mg/l un 4,70 mg/l.

*IL-1B (+3954) C/T un tā mijiedarbība ar KSS*

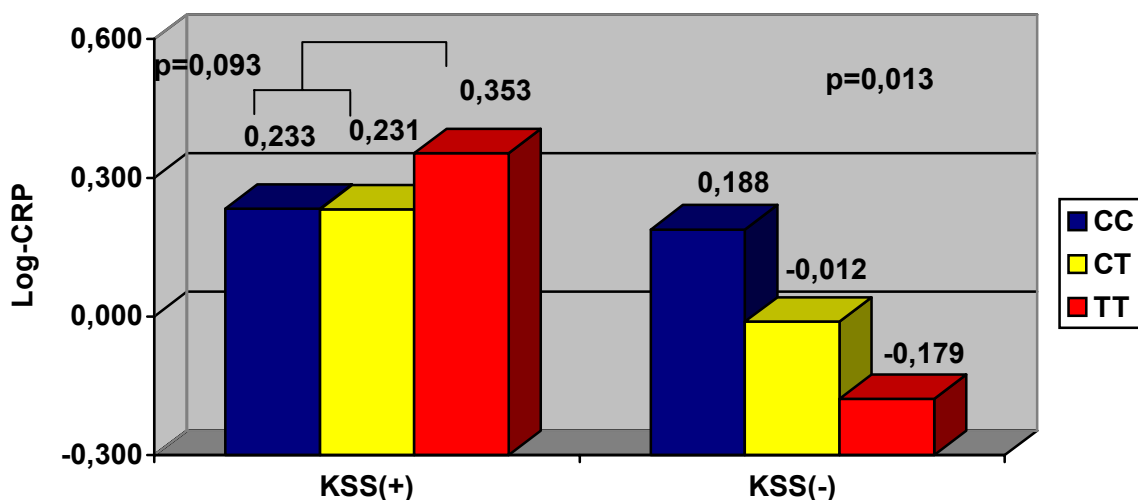
Tāpat kā pilotanalīzē (sk. iepriekš), arī visā 624 slimnieku kopā saglabājās T alēles saistība ar augstāku CRP līmeni, tomēr šī sakarība nebija statistiski ticama un norādīja uz iespējamu T alēles ietekmi recesīvā veidā (sk. 6.3.5. tabulu). Slimniekiem ar TT genotipu paaugstinātu CRP līmeni ( $>3$  mg/l) sastapa biežāk kā slimniekiem ar CT un CC genotipu (attiecīgi 46,3%, 33,8% un 32,2%), un šī atšķirība starp slimniekiem ar TT un CT/CC genotipiem bija tuvu statistiski ticamai ( $p=0,075$  UVA un  $p=0,070$  MVA; sk. 6.3.6. tabulu).

Lai noskaidrotu iespējamus cēloņus, kādēļ iepriekš atrastā T alēles saistība ar augstāku CRP līmeni nebija tik pārliecinoša paplašinātajā analizē, tika veikti papildaprēķini, analizējot vairākus potenciālos skaidrojumus:

- (i) Atšķirā no pilotanalīzes paplašinātajā analizē tika iekļauti slimnieki arī ar augstāku CRP līmeni ( $>15$  mg/l), bet tika izslēgti tikai slimnieki ar CRP  $>3$  SD (26,4 mg/l). Ierobežojot datu analīzi vienīgi uz slimniekiem ar CRP  $<15$  mg/l ( $n=909$ ; 97,1%), rezultāts būtiski neatšķīrās. Tātad ar CRP līmeņa atšķirību nevar izskaidrot statistiskās ticamības mazināšanos.
- (ii) Par iespējamu rezultātu neprecīzas atbilstības cēloni tika pieļauta vairāku (sešu) neģenētisko faktoru iekļaušana MVA modeļos paplašinātajā analizē kā pilotanalīzē (četri neģenētiskie faktori). Pret to liecināja fakts, ka paplašinātajā analizē arī UVA netika konstatēta augsta statistiskā ticamība. Turklāt, pārbaudot MVA ar sākotnējā analizē izmantotajiem četriem mainīgajiem, rezultāti būtiski neatšķīrās.
- (iii) Pilotanalīzē tika iekļauti tikai slimnieki ar angiogrāfiski pierādītu KSS, savukārt paplašinātās analīzes kopā angiogrāfiski tā bija pierādīta 513 (82,2%) personām. Veicot atsevišķu analīzi slimniekiem ar pierādītu KSS un personām bez KSS ( $n=80$ , 12,8%), atklājās mijiedarbība ar KSS - IL-1B (+3954) T alēles saistība ar CRP abās grupās bija pilnīgi pretēja. Slimniekiem ar KSS un TT genotipu CRP līmenis bija augstāks kā C alēles nēsātājiem ( $p=0,093$  pēc MVA; sk. 6.3.9. diagrammu) un biežāk CRP bija  $>3$  mg/l – 50,0% vs. 37,2% CT un 33,2% CC genotipam ( $p=0,054$  pēc MVA; sk. 6.3.10. diagrammu). Personām bez KSS CRP līmeņa inversā korelācija ar T alēļu skaitu bija statistiski ticama ( $p=0,013$ ), tomēr nebija statistiski nozīmīgu atšķirību starp genotipiem augsta CRP ( $>3$  mg/l) ziņā, ko varētu izskaidrot ar nelielajām apakšgrupām (6.3.7. tabula). Šī atrade izskaidro, kādēļ kopējā grupā statistiski ticams rezultāts netika iegūts: abās klīniski angiogrāfiskajās apakšgrupās pretējās korelācijas savstarpēji izlīdzinājās.
- (iv) Par vēl vienu potenciālu faktoru jāmin iespējamā haplotipu ietekme. Ir zināms, ka IL-1B (+3954) C/T polimorfisms ir nelīdzsvaroti saistīts ar IL-1B (-511) C/T un IL-1RN (VNTR) polimorfismu (*Santtila et al.*, 1998; *Hurme & Santtila*, 1998). Analizējot relatīvi nelielus paraugus, katra no attiecīgajām haplotipu alēlēm var uzrādīt saistību ar CRP. To daļēji balsta

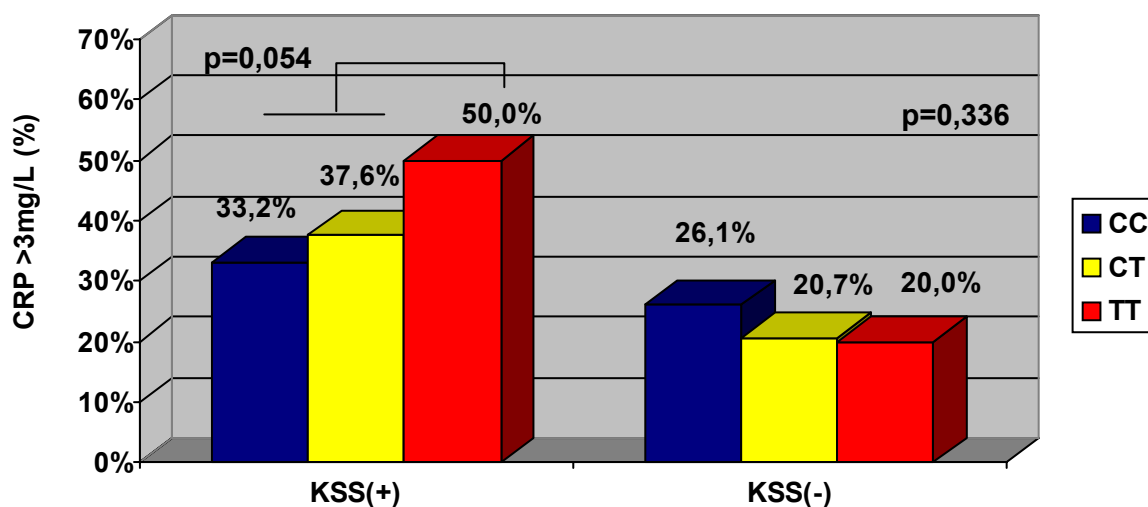
fakts, ka šai analīzē statistiski ticamāka sakarība parādās arī ar IL-1B (-511) C/T polimorfismu, kas balsta nepieciešamību analizēt šo trīs polimorfismu kooperatīvo ietekmi. Šā pētījuma ietvaros IL-1 gēnu klāstera haplotipi netika noteikti.

**6.3.9. diagramma. Log-CRP līmenis slimniekiem ar (n=513) un bez (n=80) KSS atkarā no IL-1B (+3954) genotipa (MVA)\***



\* Atbilstošās retransformētās CRP vērtības attiecīgi slimniekiem ar KSS: 1,71 mg/l, 1,70 mg/l un 2,26 mg/l. Slimniekiem bez KSS: 1,54 mg/l, 0,97 mg/l un 0,66 mg/l.

**6.3.10. diagramma. Paaugstināts CRP līmenis >3 mg/l slimniekiem ar (n=513) un bez (n=80) KSS atkarā no IL-1B (+3954) genotipa (MVA)**



### 6.3.7. tabula. IL-1B (+3954) genotipu sadalījums personām ar KSS un bez KSS

Genotips	Personas ar KSS	Personas bez KSS
CC	301 (58,7%)	46 (57,5%)
CT	178 (34,7%)	29 (36,2%)
TT	34 (6,6%)	5 (6,3%)

#### *IL-1B (-511) C/T*

Lai gan vidējais CRP līmenis starp genotipiem neatšķirās (sk. 6.3.5. tabulu), slimniekiem ar CC genotipu augsts CRP līmenis >3 mg/l bija vērojams biežāk (37,6% vs. 30,4%;  $p=0,064$  pēc MVA; sk. 6.3.6. tabulu) un tas saglabājās statistiski ticams KSS apakšgrupā (41,1% vs. 31,6%;  $p=0,021$ ).

#### *IL-1RN (VNTR)*

Ne kopējā pētījuma grupā, ne klīniski angiogrāfiskās apakšgrupās statistiski ticama atšķirība starp genotipiem netika konstatēta.

## 7. Diskusija

Šā darba galvenais mērķis bija noskaidrot, vai IL ģenētiskie polimorfismi ir saistīti ar KSS stabilu vai nestabilu gaitu. Vienlaikus tika veiktas arī vairākas papildanalīzes.

Iegūtie rezultāti liecina, ka no visām analizētajām IL ģenētiskajām variācijām ar stabilu KSS sākotnējo gaitu pārliecinoši bija saistīts IL-6 promotora biežāk sastopamais Hap\*1 (AG8/12C) recesīvā veidā. Šā haplotipa homozigoti gandrīz divreiz biežāk tika konstatēti starp slimniekiem ar stabilu sākotnējo slimības gaitu (stenokardiju) bez MI pirmā gada laikā, salīdzinot ar slimniekiem, kam MI bija attīstījies agrīni jau pirmā gada laikā (attiecīgi 30% un 16%; OR=2,41; p=0,027). Būtiski, ka šī pati sakarība tika konstatēta arī papildanalīzē ar atšķirīgu pieeju, kurā atklājās, ka pirmā gada laikā Hap\*1 homozigotiem MI attīstījās retāk nekā pārējiem slimniekiem. Pēc mums pieejamās informācijas, starptautiski citējamā literatūrā pašreiz nav atrodami pētījumi, kuros būtu analizēta IL polimorfismu saistība ar KSS sākotnējo gaitu.

Darba rezultāti norāda, ka IL-6 Hap\*1 klāiene saistīta ar zemāku aterosklerotiskās pangas destabilizācijas risku un attiecīgi retākiem akūtiem koronāriem notikumiem. Proti, Hap\*1 homozigotiem iekaisums aterosklerotiskā pangā retāk sasniedz kritisku iekaisuma aktivitāti, kas var izraisīt fibromuskulārās kapsulas izdīlšanu un pangas ruptūru. Tomēr, interpretējot šo atradi, nepieciešams iztīrīt arī pārējos mūsu analīžu rezultātus un literatūrā pieejamos eksperimentālo un klīnisko pētījumu datus. Divi galvenie šai darbā iegūtie papild dati ir atklātās Hap\*1 saistības ar biežāku vainagartēriju oklūziju un paaugstinātu CRP līmeni.

Kā jau sākumā tika minēts, darbs balstījās uz hipotēzi, ka IL polimorfismi var ietekmēt iekaisuma intensitāti un arī aterosklerotiskās pangas stabilitāti. Ja tā, tad būtu gaidāms, ka alēles vai haplotipi, kas pastiprinātu iekaisuma aktivitāti, veicinātu nestabilu KSS gaitu un agrāku MI attīstību. No šā viedokļa sākotnēji pretrunīga šķiet atrade, ka IL-6 pirmais haplotips bija saistīts arī ar augstāku CRP līmeni un tomēr sākotnēji stabilāku KSS gaitu. Šā haplotipa saistība ar CRP līmeni speciāli līdz šim ir minimāli pētīta. Ir tikai viens neliels darbs, kurā AG8/12C haplotipa nēsātājiem CRP līmenis bija nenozīmīgi zemāks akūta insulta grupā (n=34) un nozīmīgi zemāks kontrolgrupā (n=21) (*Acalovschi et al.*, 2003). No Hap\*1 raksturīgajām sastāvdaļām - 174 C alēle citos pētījumos vai nu nav bijusi saistīta ar CRP pārmaiņām (*Burzotta et al.*, 2001; *Nauck et al.*, 2002; *Basso et al.*, 2002; *Eklund et al.*, 2003), vai arī bijusi

saistīta ar paaugstinātu CRP līmeni (*Humphries et al., 2001; Jenny et al., 2002; Vickers et al., 2002*), kas saskan ar šā darba novērojumiem.

Viens no ticamākajiem šās šķietami pretrunīgās atrades skaidrojumiem ir IL-6 gēna bazālās un aktivētās ekspresijas atšķirīgās pārmaiņas Hap\*1 gadījumā. Eksperimentālajā *in vitro* pētījumā ar ECV304 šūnām šis haplotips noteica augstāku bazālo IL-6 transkripciju, bet ne ar IL-1 stimulēto ekspresiju (*Terry et al., 2000*). Savukārt citā pētījumā slimniekiem pēc insulta *in vivo* IL-6 līmenis bija zemāks nekā personām ar citiem haplotipu variantiem, turklāt *in vitro* ar adenoziņa analogu ierosinātā IL-6 transkripcija šā haplotipa klātienē arī bija reducēta (*Acalovschi et al., 2003*). Arī citi pētījumi, kuros analizēts nevis viss haplotips, bet viens vai daži tam raksturīgie polimorfismi, norāda uz līdzīgu sakarību. Piemēram, AGC haplotipa (attiecīgi -596 A, -572 G un -174 C) klātienē LPS stimulētais IL-6 līmenis paaugstinājās mazāk nekā ar pārējiem diviem haplotipu variantiem (*Rivera-Chavez et al., 2003*). Lai gan -174 G/C saistības ar bazālo un ierosināmo ekspresiju ir pretrunīga (sk. sadaļu literatūras aprakstā), ļoti svarīgs ir novērojums, ka -174 C alēlei piemīt vājāka afinitāte pret nukleāru proteīnu, ko producēja ar LPS stimulēti monocīti (*Rivera-Chavez et al., 2003*).

Tāpēc, ekstrapolējot iepriekšminēto pētījumu rezultātus uz aterosklerozes modeli, var pieņemt, ka Hap\*1 labvēlīgāk ietekmē sākotnējo KSS gaitu (kas izpaužas kā stabila stenokardija), jo iekaisumu trigerējošo faktoru iespaidā, atšķirā no citiem haplotipiem tas nereaģē ar tik spilgtu IL-6 producēšanas un tai sekojošās iekaisumreakcijas amplifikāciju. Attiecīgi aterosklerotiskās pangas iekaisums retāk izraisītu ruptūru un akūtu vainagartērijas trombozi. No otras puses, ja Hap\*1 nosaka stiprāku bazālo IL-6 producēšanu, arī CRP bazālais līmenis būs augstāks, kas arī tika konstatēts šai darbā. Tāpat ar augstāku bazālo iekaisuma aktivitāti var skaidrot arī novērojumu, ka Hap\*1 nēsātājiem bija tendence uz angiogrāfiski biežāk apstiprinātu KSS, kas norāda, ka Hap\*1 varētu būt saistīts ar nedaudz paaugstinātu KSS attīstības risku, pat ja sākotnējā gaita ir labvēlīgāka.

Diskusijas vērtā ir arī novērotā Hap\*1 saistība ar biežāku vainagartēriju oklūziju angiogrammā, īpaši slimniekiem ar MI anamnēzi. Visticamākais skaidrojums ir pilnīgā saskaņā ar to pašu koncepciju: aterosklerotiskā panga Hap\*1 klātienē var ilgstošāk progresēt bez ruptūras, un brīdī, kad notiek artērijas trombozēšanās, lielāku oklūzijas daļu aizņem ateroma un relatīvi mazāku - trombs. Tāpēc spontānas vai medikamentozas fibrinolīzes efektivitāte ir mazāka un artērijas rekanalizācija notiek



retāk nekā gadījumos, kad panga plīst agrīni un lielāko lūmena daļu aizņem trombs. Šo sakarību var salīdzināt ar novērojumiem, ka smēķētājiem fibrinolītiskā terapija un prognoze pēc MI ir relatīvi labāka nekā nesmēķētājiem, jo akūtās oklūzijas vietā proporcionāli lielāka ir tromba daļa (*Gottlieb et al.*, 1996).

Pētījuma dizaina dēļ izolēta MI un vainagartērijas oklūziju analīze var būt problemātiska. Pētot abu šo mainīgo savstarpējo saistību bija redzams, ka gandrīz 1/3 slimnieku bez MI anamnēzes tika konstatēta vainagartērijas oklūzija, savukārt slimniekiem ar pārciestu MI – oklūzija tika konstatēta tikai apmēram 1/2 gadījumā. Tāpēc oklūzija, lai arī slikts prognostisks raksturlielums, nevar tikt izmantota par akūta notikuma surogātmarķieri. Lai gan daļai slimnieku MI var attīstīties asimptomātiski, ne visas oklūzijas saistāmas ar akūtu notikumu, jo pakāpeniska augstas pakāpes stenozes progresēšana arī var izraisīt oklūziju bez miokarda nekrozes. Ievērojot iepriekš minēto, tika veikta papildanalīze, kurā ņemta vērā gan MI anamnēze, gan oklūzijas klātbūtne koronārā angiogrāfijā. Arī šai analīzei ir zināmi trūkumi, proti, slimniekiem pēc akūta MI spontāni vai terapijas gaitā notiek reperfūzija un ne visiem saglabājas hroniska pilnīga oklūzija. Tā kā vainīgās (*culprit*) artērijas oklūzija saistīta ar sliktāku ilglaika prognozi, jebkurā gadījumā konstatētā statistiski pārliecinošā Hap\*1 saistība ar biežāku oklūziju pēc MI ir klīniski potenciāli svarīga.

Darbā netika konstatēta Hap\*1 saistība ar retāku vai biežāku MI attīstību, kas norāda, ka MI kopējo risku tas neietekmē vai arī šāda ietekme ir krietni mazāka un to būtu iespējams konstatēt, tikai balstoties uz lielāku slimnieku skaitu. Viens no skaidrojumiem varētu būt tāds, ka Hap\*1 klātienē KSS attīstās ātrāk, bet, tā kā sākotnējā slimības gaita ir stabila un pirmais MI attīstās vēlāk, MI risks nav tik krasi atšķirīgs no pārējiem haplotipiem. Abās šā pētījuma analīzēs, kurās tika salīdzināts vecums, kad attīstījās pirmais MI un pirmās KSS izpausmes, Hap\*1 nēsātājiem bija statistiski nenozīmīga tendence uz KSS attīstību jaunākā vecumā, lai gan MV analīze to neapstiprināja.

### *Hap\*1 komponentes*

No šā pētījuma nav iespējams izdarīt secinājumus, kura Hap\*1 veidojošā alēle (izņemot -572G) atbild par novērotajiem bioloģiskajiem efektiem, jo starp -596 A, -373 A8T12 un -174 C alēli pastāv stipri nelīdzsvarota saistība. No visām paraugā atrastajām šādām alēlēm gandrīz visas bija Hap\*1 sastāvā (attiecīgi 99,1%, 99,9% un 98,4%). Nelielās atšķirības, kas, analizējot dažādos raksturlielumus (piemēram, KSS sākotnējo gaitu, CRP līmeni u.c.), parādījās starp šīm alēlēm, var būt pilnībā skaidrojamas ar nejaušām atšķirībām kļūdas robežās. Nelielais pirmajā haplotipā neietilpstošo tam raksturīgo alēļu skaits neļauj izdarīt statistiski ticamus aprēķinus, lai precizētu šo alēļu individuālo nozīmi. Literatūrā ir dati, ka -174 C alēle, to analizējot izolēti no -596 A un A8T12 (proti, salīdzinot AG8/12C haplotipu ar AG8/12G haplotipu), bija saistīta ar stiprāku IL-1 stimulēto ekspresiju (*Terry et al.*, 2000). Tāpēc nav izslēgts, ka iepriekš minētā atrade, kurā C alēle bija saistīta ar vājāku afinitāti pret monocītu nukleāro proteīnu (*Rivera-Chavez et al.*, 2003), varētu būt skaidrojama ne tieši ar pašu -174 C alēli, bet ar kādu citu Hap\*1 sastāvdaļu. No otras puses, šo alēļu stiprā savstarpējā saistība šādu analīzi no klīniskā viedokļa padara par ne tik kritiski svarīgu. Ja Hap\*1 tiek izmantots par ģenētisku riska marķieri, tad, nosakot jebkuru no šīm alēlēm, ar aptuveni 99% varbūtību tā būs saistīta ar abām pārējām Hap\*1 raksturīgajām alēlēm, lai gan gaidāms, ka A8T12 specifitāte varētu būt augstāka. Rezumējot, Hap\*1 šā darba ietvaros ir interpretējams par vienotu veselu un nav iespējams interpretēt -596 A, -373 A8T12 un -174 C alēles atsevišķo ietekmi.

### Citi polimorfismi

Nevienam no pārējiem IL-6 haplotipiem, kā arī nevienai no analizēto pārējo IL polimorfismu alēlēm netika konstatēta saistība ar KSS sākotnējo *klīnisko gaitu*. Tomēr vairākām variācijām tika atrasta saistība ar citiem klīniskiem, angiogrāfiskiem vai laboratoriskiem raksturlielumiem.

### *IL-6 Hap\*2 un IL-6 (-373) A9T11*

Šā haplotipa un tam raksturīgās A9T11 alēles homozigotiem bija vērojama vēlāka KSS pirmo simptomu attīstība un A9T11 nēsātājiem – tendence uz pirmā MI attīstību vēlākā vecumā. Kopumā šie rezultāti, lai gan ne pārliecinoši, norādīja uz iespējamu Hap\*2 un A9T11 vāju protektīvu efektu.

Lai gan tika novērota no statistikas viedokļa ticama *IL-6 Hap\*2* saistība ar zemāku *CRP* līmeni, ko galvenokārt varēja skaidrot ar A9T11 alēles (96,2% no visām A9T11 alēlēm bija Hap\*2 sastāvā) efektu, tomēr šī sakarība nebija pārliecinoša. Starp Hap\*2 skaitu un *CRP* līmeni nebija vērojama lineāra sakarība, jo Hap\*2 homozigotiem *CRP* līmenis bija augstāks nekā heterozigotiem un apmēram tikpat augsts kā tiem, kas nebija Hap\*2 nēsātāji. Šai atradei bija iespējami vairāki skaidrojumi:

1. Tā kā Hap\*1 un Hap\*2 ir biežākie haplotipu varianti, starp kuriem pastāv izteikta apgriezta korelācija (Spīrmena  $r=-0,358$ ;  $p<0,0001$ ), Hap\*2 klātie nevarētu būt saistīti ar zemāku *CRP*, galvenokārt salīdzinājumā ar Hap\*1 homozigotiem (zūd Hap\*1 recesīvais efekts).
2. Slimniekiem, kam ir vismaz viens Hap\*2, iespējams, zemāku *CRP* līmeni nosaka to saistība ar citiem (ne Hap\*1) haplotipu variantiem (piemēram, 2/3, 2/4 u.c.).
3. Tā kā Hap\*2 homozigotu ir krietni mazāk ( $n=25$ ) nekā 1/1 un 1/2 grupā, paaugstināts *CRP* līmenis varētu būt gadījuma rakstura dēļ.

Tomēr papildanalīzes neapstiprināja pirmos divus skaidrojumus, tādēļ nevar izdarīt nepārprotamus secinājumus par Hap\*2 ietekmi uz iekaisuma aktivitāti.

Arī literatūras dati neliecina par šā haplotipa saistību ar vājāku bazālo iekaisuma aktivitāti, bet vairāk par spilgtāku ierosināmo ekspresiju. Nelielā pētījumā ar personām bez hroniska periodontīta ( $n=77$ ) A9T11 alēles nēsātājiem atklāts zemāks *IL-6* līmenis (Komatsu *et al.*, 2005), savukārt šās alēles homozigotiem bija krietni augstāks *IL-6* līmenis pēc CABG operācijas (Kelberman *et al.*, 2004a). Citā *in vitro* pētījumā šis haplotips neatšķīrās bazālās transkripcijas ziņā, bet bija saistīts ar pastiprinātu *IL-1* ierosināto *IL-6* ekspresiju (Terry *et al.*, 2000). Tāpat *in vitro* LPS ierosinātā *IL-6* transkripcija bija spilgtāka G-G-G haplotipa (attiecīgi -596 G, -572 G un -174 G) gadījumā, lai gan tajā tikai daļa slimnieku atbilst 2. haplotipam (Rivera-Chavez *et al.*, 2003). Literatūrā nav datu par šā haplotipa saistību ar KSS klīniski angiogrāfiskiem kritērijiem.

#### *IL-6 Hap\*3 un IL-6 (-373) A10T11*

Starp Hap\*3 (GG10/11G) haplotipu un A10T11 alēli pastāvēja 100% abpusēja korelācija, un, tā kā Hap\*3 atšķīrās no Hap\*2, \*4 un \*6 tikai ar AnTn alēli, visas atšķirības no šiem haplotipiem skaidrojamas tikai ar A10T11 efektu. Lai gan saistības ar klīnisko gaitu un *CRP* līmeni nebija, vairākās analīzēs tika iegūta norāde uz Hap\*3

iespējamām protektīvām īpašībām - retāk konstatēja angiogrāfiski apstiprinātu KSS, oklūzijas un MI kombināciju, kā arī bija tendence uz vēlāku KSS sākumu. Tomēr dažas no šīm sakarībām bija spēkā tikai homozigotiem, kuru bija nedaudz (n=16), tādēļ pastāv statistiskās alfa kļūdas risks, skaidrojot šos rezultātus. Eksperimentālo pētījumu dati literatūrā saskan ar šo novērojumu tādā aspektā, ka vienā pētījumā ierosināmā IL-6 ekspresija GG10/11G haplotipa gadījumā vieglāk pakļāvās deksometazona supresijai (Terry *et al.*, 2000) un citā pētījumā A10T11 konstatēja zemāku ekspresijas līmeni nekā A9T11 alēlei (Kelberman *et al.*, 2004a).

#### *IL-6 Hap\*4, IL-6 Hap\*5, IL-6 (-373) A10T10 un IL-6(-572) C*

Gan Hap\*4 (GG10/10G), gan Hap\*5 (GC10/10G) satur A10T10 alēli, un atšķirība starp abiem haplotipiem izpaužas tika -572 pozīcijā ar G (Hap\*4) vai C (Hap\*5) alēli. Savukārt visas -572 C alēles atradās Hap\*5 sastāvā. No šīm variācijām tikai Hap\*5 (-572 C) bija konstatējama saistība ar pirmā MI attīstību vēlākā vecumā, bet nevienā no citām analīzēm. Arī publicētajos haplotipu analīzes pētījumos nav pārliecinošas norādes uz to nozīmīgu ietekmi uz IL-6 transkripciju (Terry *et al.*, 2000; Acalovschi *et al.*, 2003; Rivera-Chavez *et al.*, 2003; Kelberman *et al.*, 2004a).

#### *IL-6 Hap\*6 un IL-6 (-373) A9T12*

Lai gan šā retā haplotipa nēsātājiem tika konstatēts krietni paaugstināts CRP līmenis, tomēr saistība ar klīniski angiogrāfiskiem kritērijiem netika atrasta. Tā kā šādu slimnieku bija ļoti maz (deviņi heterozigoti jeb 0,7% visu haplotipu) pastāv gan alfa, gan bēta kļūdas iespējamība, attiecīgi vedinot domāt par nejauši atklātu saistību ar augstu CRP līmeni vai arī neidentificētu nozīmīgu ietekmi uz KSS attīstību un slimības gaitu. Ņemot vērā šā haplotipa retumu, tā gaidāmā klīniskā nozīme, vismaz visas populācijas mērogā, ir niecīga. Vienīgi jāatzīmē, ka citējamā literatūrā līdz šim nav atrodami ziņojumi par šādas IL-6 (-373) alēles un attiecīgi arī haplotipa varianta esamību.

#### *IL-1B (+3954) C/T*

Lai gan sākumā tika konstatēta T alēles pārliecinoša saistība ar augstāku CRP līmeni (Latkovskis *et al.*, 2004a), vēlāki aprēķini ar lielāku slimnieku grupu apliecināja, ka šāda sakarība pastāv tikai slimniekiem ar KSS, savukārt personām bez KSS pastāv tendence uz zemāku CRP līmeni. Literatūrā līdz šim nav ziņots par šādu mijiedarbību,

tomēr atrade ilustrē pētāmās kopas atlasē ietekmi uz rezultātiem, kas var skaidrot atšķirības starp dažādu autoru grupu ziņojumiem. Mijiedarbība starp polimorfismu un KSS un tās ietekme uz CRP nebija šā darba galvenais uzdevums. Tomēr var pieņemt, ka šis polimorfisms atšķirīgi modulē bazālo iekaisuma aktivitāti personām ar aterosklerozi vai bez tās, kas savukārt varētu būt atkarīgs no diferencētas dažādu transkripcijas faktoru ietekmes.

Pētījumā netika atrasta sakarība starp šo polimorfismu un KSS klīnisko gaitu, tomēr bija dažas norādes par iespējamu T alēles asociāciju ar vēlāku KSS sākumu (homozigotiem) un pirmā MI attīstību agrākā vecumā (tikai MVA). Kopumā dati par šā polimorfisma ietekmi uz klīniskiem notikumiem nav pārliecinoši.

#### *IL-1B (-511) C/T*

Ar šo polimorfismu nevienā analizē neparādās statistiski pārliecinoša korelācija ne ar CRP līmeni, ne ar jebkādu klīniski angiogrāfisko kritēriju.

#### *IL-1RN (VNTR)*

No visiem trim alēļu variantiem tikai retākajai trešajai alēlei tika konstatēta saistība ar vienu raksturlielumu – retāku MI anamnēzē. Tā kā šī alēle ir reta (28 heterozigoti jeb 2% visu alēļu), šai atradei visdrīzāk ir nejaušības raksturs. Arī pretējā gadījumā tās gaidāmā potenciālā klīniskā nozīme nav liela.

#### ***Pētījuma novitāte un priekšrocības***

Salīdzinot ar publicētajām analizēm, šim darbam ir vairākas nozīmīgas priekšrocības.

1. Līdz šim ir tikai daži pētījumi, kuros būtu analizēta jebkāda faktora saistība ar KSS sākotnējo klīnisko gaitu. Tradicionāli pētījumos tiek salīdzinātas personas ar KSS vai bez tās, un nereti par kritēriju tiek izmantots MI, retāk arī angiogrāfiski konstatētais bojāto vainagartēriju skaits. KSS gaitas un/vai pirmās manifestācijas ignorēšana var būt viens no pētījumos atklāto pretrunu cēloņiem, jo šai aspektā slimnieki var būtiski atšķirties cits no cita. Vēl vairāk, pēc mūsu rīcībā esošās informācijas, līdz šim nav publicēts neviens pētījums, kurā būtu meklēta saikne starp ģenētiskajiem faktoriem un KSS gaitu.
2. Lai gan ir samērā daudz pētījumu, kuros aplūkota IL-6 gēna promotora atsevišķu polimorfismu ietekme uz IL-6 ekspresiju, iekaisuma aktivitāti un

klīniskiem vai angiogrāfiskiem raksturlielumiem, ir tikai dažas publikācijas, kur analizēti pilni vai nepilni (tikai pēc trim SNP) IL-6 haplotipi (*Terry et al.*, 2000; *Acalovschi et al.*, 2003; *Rivera-Chavez et al.*, 2003; *Kelberman et al.*, 2004a), un literatūrā nav datu par KSS vai tās gaitas saistību ar IL-6 haplotipiem. Bez tam mūsu darbā ir vienlaikus analizētas gan IL-6, gan IL-1B un IL-1RN ģenētiskās variācijas.

3. Pētījumā tika iekļauts daudz lielāks cilvēku skaits (n=686) nekā minētajos IL-6 haplotipu analīzes pētījumos (no 49 līdz 182 personām) (*Terry et al.*, 2000; *Acalovschi et al.*, 2003; *Rivera-Chavez et al.*, 2003; *Kelberman et al.*, 2004a), kas krietni palielina statistisko spēku un rezultātu ticamību.
4. Visām 686 personām haplotipi tika noteikti tiešā veidā, sekvenējot attiecīgo promotora apvidu, nevis rekonstruēti ar datorprogrammas palīdzību, tātad informācija par haplotipiem bija ļoti kvalitatīva.
5. Ļoti būtisks ir novērojums, ka vienam un tam pašam haplotipam (Hap\*1) tika atklātas statistiski nozīmīgas saistības, analizējot dažādus kritērijus (sākotnējās klīniskās gaitas gadījumu-kontrolgrupu salīdzinājums; laiks līdz pirmajam MI; angiogrāfiski konstatēta oklūzija; CRP līmenis). Pētījumā par atskaites punktiem tika ņemti ne tikai klīniski anamnētiskie dati, bet arī objektīvā vainagartēriju bojājuma atrade. KSS diagnoze tika apstiprināta ar koronāro angiogrāfiju, kas pašreiz klīniskā praksē un arī zinātniskos pētījumos ir visplašāk izmantotā KSS diagnozes apstiprināšanas metode. Tāpēc statistiskas nejaušības varbūtība ir praktiski izslēgta. Turklāt atrastās ģenētisko variāciju sakarības ar CRP līmeni bija īpaši pārliecinošas, kad tika salīdzināti tieši slimnieki ar paaugstinātu CRP līmeni (>3 mg/l) - tātad šī ietekme uz iekaisuma aktivitātes līmeni ir potenciāli klīniski svarīga.
6. Tika veiktas arī rūpīgas daudzmainīgo analīzes, modeļos ievadot virkni neģenētisko faktoru, lai pēc iespējas mazinātu asociāciju kļūdas un noskaidrotu ģenētisko faktoru ietekmi arī papildus tradicionāliem KSS riska faktoriem.
7. Pētījumam tika atlasīti tikai slimnieki, kam līdz šim nav veikta nekāda veida revaskularizācija, kas būtu varējusi ietekmēt slimības dabisko klīniskās manifestācijas gaitu.

### ***Pētījuma iespējamie trūkumi***

Viens no iespējamajiem trūkumiem ir datu par KSS sākotnējo gaitu retrospektīvais iegūšanas ceļš – tāpēc slimnieku sniegtā informācija par sākotnējo gaitu, it īpaši par pirmo stenokardijas simptomu manifestācijas laiku, var nebūt absolūti precīza. Slimnieku sniegto ziņu kļūdu mazināšanas nolūkā anketās speciāli tika atzīmēts, vai slimnieki ir noteikti pārlicināti par savu pirmo simptomu izpausmju hronoloģiju. Šī informācija tika ņemta vērā, analizējot slimības sākotnējo gaitu, jo no šiem aprēķiniem tika izslēgti to slimnieku dati, par kuru pirmajiem simptomiem informācija bija šaubīga vai nezināma. Jāpiebilst, ka vairumam slimnieku KSS anamnēze nebija ilga (50% ne vairāk kā viens gads un 82% ne vairāk kā pieci gadi), kas papildus liecina par anamnētisko datu ticamību.

Kā tas ir raksturīgi visiem retrospektīviem pētījumiem, arī šai gadījumā jāapzinās, ka notikusi zināma slimnieku selekcija, jo slimniekus pēc fatāla iznākuma nav iespējams iekļaut. Tāpat jāņem vērā, ka bez pangas evolūcijas pastāv arī citi faktori, kas var ietekmēt klīnisko manifestāciju, piemēram, sāpju sliekšnis un kolaterālās asinsrites veidošanās. Tomēr par KSS klīnisko ainu ir iespējams spriest tikai pēc anamnēzes, kas iegūta no slimniekiem, bet prospektīvs KSS gaitu novērojošs pētījums mūsu dienās būtu ļoti problemātisks tieši ētisku apsvērumu dēļ. Slimniekiem ar stabilu stenokardiju nebūtu pieļaujama ilgstoša novērošana, neveicot koronāro angiogrāfiju, kam ar lielu varbūtību sekotu revaskularizācija (PTCA vai CABG), kas var modificēt turpmāko slimības klīnisko gaitu.

Lai gan pētījuma rezultātiem mazsvarīga, tomēr veselo cilvēku kontrolgrupa, kas tika definēta kā personas, kam angiogrāfiski netika atrasta nozīmīga koronāro artēriju slimība, jāinterpretē ar lielu piesardzību. Pirmkārt, šie cilvēki ir samērā selektīva kopa, kam klīniski ir bijušas aizdomas par KSS un kas var atšķirties no vidusmēra veselām personām gan ģenētiski, gan fenotipiski. Piemēram, starp šiem slimniekiem ar lielāku varbūtību var būt mikrovaskulāras stenokardijas gadījumi, kuras etioloģija nav pilnībā skaidra. Otrkārt, ar angiogrāfiju nav iespējams pilnībā izslēgt koronāro aterosklerozi arī šiem slimniekiem. Precīzākā metode – intravaskulārā ultrasonoskopija – savukārt netiek izmantota klīniskā praksē par rutīnas izmeklējumu augsto izmaksu un, mazākā mērā, arī nedaudz paaugstināta komplikāciju riska dēļ. Mēģinot pēc iespējas padarīt tīrāku šo kontrolgrupu, no tās tika izslēgti slimnieki ar norādi uz aterosklerotiskām pangām bez nozīmīgi kompromitēta lūmena. Treškārt, šī

grupa bija samērā neliela, kas paaugstina statistisku kļūdu varbūtību. Nobeigumā vēlreiz jāuzsver, ka darba galvenie rezultāti nebalstās uz šā grupas analīzes datiem.

### ***Darba un pētījuma rezultātu nozīme***

Darba rezultāti apliecina divus būtiskus KSS dabiskās gaitas ietekmējošus patoģenēzes faktoros – gan iekaisuma nozīmi, gan arī tā ģenētiskās regulācijas ietekmi. Būtiski, ka neviens tiem pašreiz netiek ņemts vērā klīniskā praksē, vērtējot slimnieku risku. Novērojumi, ka starp slimniekiem ar stabilu un nestabilu KSS gaitu pastāvēja atšķirības IL-6 ģenētisko variāciju ziņā, papildus uzsver iekaisuma un tā ģenētiskās regulācijas īpašo nozīmi. Šie novērojumi palīdz labāk izprast koronārās aterosmas destabilizācijas patoģenētiskos un biomolekulāros mehānismus, kas savukārt var kļūt par atbilstošas ārstnieciskas iejaukšanās mērķi. Lai gan multifaktoriālām slimībām jebkura atsevišķa inovatīva riska faktora potenciālā ietekme uz absolūto slimības risku ir relatīvi maza, mūsu pētījums apliecina, ka IL-6 promotora haplotipi pieder pie perspektīvām kardiovaskulārā riska ģenētiskā skrīninga sastāvdaļām. Katrā ziņā IL-6 ir svarīgs kandidātgēns, kura promotora haplotipu analīzes klīniskā lietderība ir jāpārbauda arī citos pētījumos dažādās grupās.

Ne mazsvarīgs ir fakts, ka šās darba (un Latvijas Genoma pilotprojekta) ietvaros pirmo reizi Latvijā izveidota no fenotipiskā viedokļa ļoti detalizēta liela KSS slimnieku kopa, kuras dati varēs tikt izmantoti gan šo, gan citu slimības ģenētisko faktoru izpētē. Katras kopas ģenētiskās izpētes nozīmi raksturo arī novērojums, ka IL-6 Hap\*1 sastopamība mūsu slimnieku kopā (49,3%) bija krietni biežāka nekā citās populācijās (33-43%; *Terry et al., 2000; Acalovschi et al., 2003; Kelberman et al., 2004a*). Arī Hap\*1 raksturīgā IL-6 (-174) C alēle šai pētījumā bija biežāka (50,1%) par G alēli, kas ir pretstatā vairumam citu datu (35%-41%) (*Brull et al., 2001; Basso et al., 2002; Kelberman et al., 2004*). Kā liecina IL-6 (-174) SNP analīzes aptuveni 100 etnisko latviešu paraugos, C alēles relatīvi augstā frekvence ir Latvijas iedzīvotāju īpatnība (mūsu nepublicētie dati).

Šai kontekstā izkristalizējas darba papildu aktualitāte, proti, nozīmīga sakarība tika atrasta *bieži sastopamam* haplotipam. No visiem pētāmās kopas personām 22,4% bija Hap\*1 homozigoti. Kā zināms, multifaktoriālo slimību ģenētiskos faktoros par klīniski svarīgiem var uzskatīt tikai gadījumos, ja tie ir bieži sastopami vai arī tiem piemīt liela ietekme uz fenotipu. Runājot par IL-6 Hap\*1 ietekmes spēku, arī tas bija nozīmīgs. Piemēram, daudzmainīgo analīzē IL-6 Hap\*1 homozigotiskās formas



saistība ar stabilu sākotnējo gaitu (OR=2,41; p=0,027) bija *trešā spēcīgākā* no visiem modeļa faktoriem aiz arteriālās hipertensijas (OR=3,52; p=0,006) un sieviešu dzimuma (OR=2,47; p=0,44), atstājot aiz sevis tādus riska faktoros kā smēķēšana, holesterīna līmenis un cukura diabēts. Tāpat, salīdzinot Hap\*1 homozigotiskās formas relatīvo ietekmi uz kombinēto MI un vainagartērijas oklūzijas kritēriju (OR=1,57; p=0,023) ar neģenētiskajiem faktoriem, tā bija otra spilgtākā aiz smēķēšanas (OR=1,61; p=0,034), bet neviens no pārējiem riska faktoriem statistiski ticami ar šo kritēriju nekorelēja. Tāpēc ir atklāta sakarība ar ģenētisko faktoru, kas ir gan bieži izplatīts, gan ar nozīmīgu ietekmi uz klīnisko gaitu.

### ***Rezultātu iespējamais praktiskais lietojums***

*Pirmkārt*, iegūtie rezultāti apstiprina pieņēmumu, ka IL-6 ir svarīgs KSS patoģenēzē iesaistīts citokīns, un izvirza IL-6 gēnu par svarīgu kandidātģēnu koronārās aterosklerozes ģenētikas turpmākajā izpētē.

*Otrkārt*, tiek uzsvērta nepieciešamība padziļināti analizēt šā gēna ekspresiju ietekmējošos faktoros. Ja tiktu noskaidroti gēna ekspresiju regulējošie mehānismi, kas savukārt var ietekmēt promotora haplotipu apvidus variācijas, tiktu iegūta teorētiskā bāze, lai varētu uz šiem faktoriem iedarboties ar farmakoloģiskiem līdzekļiem. Jāuzsver, ka atklātā sakarība ar CRP līmeni var būt nozīmīgas ne tikai KSS, bet arī citu iekaisīgo slimību patoģenēzes izpētei.

*Treškārt*, jāanalizē IL-6 haplotipu izmantošana kā viens no ģenētiskiem kardiovaskulārā riska marķieriem gan primārās, gan sekundārās profilakses aspektā. Teorētiski IL-6 haplotipus, tāpat kā citas ģenētiskās variācijas, būtu iespējams izmantot par marķieriem papildus tradicionālajiem riska faktoriem, kad tiek vērtēts slimnieku risks un lemtas indikācijas savlaicīgas farmakoterapijas sākšanai. Zinot, ka dzīvībai bīstamas ir tieši KSS nestabilās izpausmes, marķieris, kas saistīts ar augstāku agrīnas nestabilas gaitas risku, mudinātu izvēlēties ātrāku farmakoterapijas sākšanu. Lietojumu šāds marķieris noteikti iegūtu arī sekundārā profilaksē, izvēloties preventīvās terapijas intensitāti.

Diemžēl līdzšinējie mēģinājumi atrast klīniski lietojamus ģenētiskos KSS marķierus pagaidām vēl nav snieguši gaidītos rezultātus, jo 1) to absolūtā ietekme uz kopējo risku parasti bijusi maza un/vai 2) nav bijuši veikti pietiekami lieli prospektīvi pētījumi, kas apstiprinātu izvirzīto marķieru nozīmi dažādās populācijās. Šai kontekstā arī attiecīgi jāvērtē pašreizējie dati. Tādēļ nevar neatzīmēt, ka, pēc mūsu darba

aprēķiniem, Hap\*1 gaidāmā absolūtā ietekme uz klīnisko gaitu joprojām nav pietiekami liela, lai pašreiz to varētu ieteikt par rutīnu izmeklējumu kardiovaskulārā riska vērtēšanā. Loģistiskās regresijas analīzes modelis ar neģenētiskajiem faktoriem un Hap\*1 homozigotu statusu izskaidroja ne vairāk kā 20% sākotnējās klīniskās gaitas variāciju (pēc atšķirīgām metodēm rēķinot,  $R^2=0,125$  un  $R^2=0,198$ ), kas multifaktoriālas patoloģijas gadījumā ir samērā labs raksturlielums. Tā kā starptautiski citējamā literatūrā nav atrodami līdzīgi dati, ļoti svarīgi ir atrasto saistību reproducēt arī citos, vēlams vēl plašākos pētījumos dažādās populācijās.

### ***Nākotnes plāni***

Izveidotā datubāze tiks izmantota turpmākas pētniecības nolūkā, turpinot analizēt gan IL, gan citu ģenētisko variāciju saistību un mijiedarbību ar riska faktoriem un farmakoterapiju. Tiek plānots noskaidrot arī to ietekmi uz klīniskiem notikumiem prospektīvā slimnieku novērojumā („follow-up”). No pirmām iestrādēm šais virziena minami pētījumi, kuros analizēta IL polimorfismu mijiedarbība ar tradicionālajiem riska faktoriem (*Latkovskis et al.*, 2004c) un farmakoterapiju (*Latkovskis et al.*, 2006), kā arī to saistība ar insulīnrezistenci (*Latkovskis et al.*, 2005b). Pašreizējā datubāzes informācija tiks izmantota arī dažādos sadarbības projektos ar citām zinātnieku grupām Latvijas Genoma pilotprojekta ietvaros.

## 8. Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes

1. IL-6 promotora apvidus biežākais haplotips AG8/12C (Hap\*1) veicina stabilāku KSS sākotnējo klīnisko gaitu.
2. Atrasta IL-1B (3954) C/T un IL-6 ģenētisko variāciju saistība ar vairākiem klīniskiem KSS kritērijiem.
3. Pastāv saistība starp IL-6 haplotipiem un angiogrāfiski diagnosticētām vainagartēriju oklūzijām.
4. IL-1B un IL-6 ģenētiskās variācijas ietekmē iekaisuma marķiera hs-CRP līmeni.

## 9. Secinājumi

1. IL-6 promotora apvidus haplotipi ietekmē KSS sākotnējo klīnisko gaitu. Biežākais Hap\*1 (AG8/12C) recesīvā veidā veicina stabilāku sākotnējo KSS gaitu un zemāku MI attīstības risku pirmā slimības gada laikā.
2. IL-6 Hap\*1 piemīt neitrāla vai vāja veicinoša ietekme uz kopējo KSS attīstības risku, neatkarīgi no sākotnējās klīniskās gaitas.
3. Iegūtas norādes par pārējo ģenētisko variāciju saistību ar citiem klīniskiem KSS raksturlielumiem:
  - a. IL-6 Hap\*3 (GG10/11G) ar retāku angiogrāfiski atklātu KSS (homozigotiem);
  - b. IL-6 Hap\*2 un IL-1B (+3954) T alēlei ar vēlāku KSS sākumu (homozigotiem);
  - c. IL-1B (+3954) T un IL-6 (-572) C alēlēm ar attiecīgi agrāku un vēlāku pirmā MI attīstību.
4. IL-6 promotora apvidus Hap\*1 homozigotiem biežāk saglabājas hroniskas oklūzijas pēc MI. Hap\*3 skaita korelācija ar oklūzijām savukārt ir apgriezti proporcionāla.
5. IL polimorfismi ietekmē bazālo iekaisuma aktivitāti, par ko liecina to saistība ar hs-CRP līmeni:
  - a. Vissspilgtākā saistība ir vērojama IL-6 promotora haplotipiem - biežākajam Hap\*1 ar paaugstinātu CRP līmeni no gēna devas atkarīgā veidā un Hap\*6 (GG9/12G) ar stipri paaugstinātu CRP līmeni dominantā veidā.
  - b. KSS slimniekiem IL-1B (+3954) T alēle recesīvā veidā ir saistīta ar augstāku, bet personām bez KSS – no gēna devas atkarīgā veidā ar zemāku hs-CRP līmeni.
6. Atklātā Hap\*1 saistība ar augstāku bazālo iekaisuma līmeni un stabilu sākotnējo klīnisko gaitu atbalsta hipotēzi par haplotipa ambivalentu ietekmi uz bazālo un ierosināto iekaisuma aktivitāti.

7. Darba rezultāti parāda, ka iekaisumreakciju regulējošā citokīna IL-6 gēna promotora apvidus variācijas ietekmē iekaisuma aktivitāti, koronārās aterosklerozes evolūciju un KSS klīnisko gaitu.

## 10. Vēres

Acalovschi, D., Wiest, T., Hartmann, M., Farahmi, M., Mansmann, U., Auffarth, G.U., Grau, A.J., Green, F.R., Grond-Ginsbach, C. & Schwaninger, M. (2003) Multiple levels of regulation of the interleukin-6 system in stroke. *Stroke*, **34**, 8, 1864-9.

Akira, S., Taga, T. & Kishimoto, T. Interleukin-6 in biology and medicine. (1993) *Advances in Immunology*, **54**, 1-78.

Amento, E.P., Ehsani, N., Palmer, H. & Libby, P. (1991) Cytokines positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arteriosclerosis and thrombosis*, **11**, 1223-1230.

De Backer, G., Ambrosioni, E., Borch-Johnsen, K., Brotons, C., Cifkova, R., Dallongeville, J., Ebrahim, S., Faergeman, O., Graham, I., Mancia, G., Cats, V.M., Orth-Gomer, K., Perk, J., Pyorala, K., Rodicio, J.L., Sans, S., Sansoy, V., Sechtem, U., Silber, S., Thomsen, T. & Wood, D.; European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. (2003) European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: third joint task force of European and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of eight societies and by invited experts). *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, **10**, 4, S1-S10.

Basso, F., Lowe, G.D., Rumley, A., McMahon, A.D. & Humphries, S.E. (2002) Interleukin-6 -174G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **22**, 4, 599-604.

de Benedetti, F., Massa, M., Robbioni, P., Ravelli, A., Burgio, G. R. & Martini, A. (1991) Correlation of serum interleukin-6 levels with joint involvement and thrombocytosis in systemic juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, **34**, 1158-1163.

Bennet, A.M., Prince, J.A., Fei, G.Z., Lyrenas, L., Huang, Y., Wiman, B., Frostegard, J. & Faire, U. (2003) Interleukin-6 serum levels and genotypes influence the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis*, **171**, 2, 359-67.

Berger, P., McConnell, J.P., Nunn, M., Kornman, K.S., Sorrell, J., Stephenson, K. & Duff, G.W. (2002) C-reactive protein levels are influenced by common IL-1 gene variations. *Cytokine*, **17**, 4, 171-4.

Biasucci, L.M., Vitelli, A., Liuzzo, G., Altamura, S., Caligiuri, G., Monaco, C., Rebuzzi, A.G., Ciliberto, G. & Maseri, A. (1996) Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation*, **94**, 5, 874-7.

Biasucci, L.M., Liuzzo, G., Fantuzzi, G., Caligiuri, G., Rebuzzi, A.G., Ginnetti, F., Dinarello, C.A. & Maseri, A. (1999) Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation*, **99**, 16, 2079-84.

- Biasucci, L.M. (2004) CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: clinical use of inflammatory markers in patients with cardiovascular diseases: a background paper. *Circulation*, **110**, 25, e560-7.
- Bogaty, P., Brecker, S.J., White, S.E., Stevenson, R.N., el-Tamimi, H., Balcon, R. & Maseri, A. (1993) Comparison of coronary angiography findings in acute and chronic first manifestation of ischemic heart disease. *Circulation*, **87**, 6, 1938-46.
- Bogaty, P., Poirer, P., Simard, S., Boyer, L., Solymoss, S. & Dagenais, G.R. (2001) Biological profiles in subjects with recurrent acute coronary events compared with subjects with long-standing stable angina. *Circulation*, **103**, 25, 3062-8.
- Brull, D.J., Montgomery, H.E., Sanders, J., Dhamrait, S., Luong, L., Rumley, A., Lowe, G.D. & Humphries, S.E. (2001) Interleukin-6 gene -174g>c and -572g>c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **21**, 9, 1458-63.
- Buchs, N., di Giovine, F.S., Silvestri, T., Vannier, E., Duff, G.W. & Miossec, P. (2001) IL-1B and IL-1Ra gene polymorphisms and disease severity in rheumatoid arthritis: interaction with their plasma levels. *Genes and Immunity*, **2**, 4, 222-8.
- Buffon, A., Biasucci, L.M., Liuzzo, G., D'Onofrio, G., Crea, F. & Maseri, A. (2002) Widespread coronary inflammation in unstable angina. *New England Journal of Medicine*, **347**, 1, 5-12.
- Burzotta, F., Iacoviello, L., Di Castelnuovo, A., Gliuca, F., Luciani, N., Zamparelli, R., Schiavello, R., Donati, M.B., Maseri, A., Possati, G. & Andreotti, F. (2001) Relation of the -174 G/C polymorphism of interleukin-6 to interleukin-6 plasma levels and to length of hospitalization after surgical coronary revascularization. *American Journal of Cardiology*, **88**, 10, 1125-8.
- Butcher, C., Steinkasserer, A., Tejura, S. & Lennard, A.C. (1994) Comparison of two promoters controlling expression of secreted or intracellular IL-1 receptor antagonist. *Journal of Immunology*, **153**, 2, 701-11.
- Campeau L. (1976) Letter: Grading of angina pectoris. *Circulation*, **54**, 3, 522-3.
- Capurso, C., Solfrizzi, V., D'Introno, A., Colacicco, A.M., Capurso, S.A., Semeraro, C., Capurso, A. & Panza, F. (2004) Interleukin 6-174 G/C promoter gene polymorphism in centenarians: no evidence of association with human longevity or interaction with apolipoprotein E alleles. *Experimental Gerontology*, **39**, 7, 1109-14.
- Cardellini, M., Perego, L., D'Adamo, M., Marini, M.A., Procopio, C., Hribal, M.L., Andreozzi, F., Frontoni, S., Giacomelli, M., Paganelli, M., Pontiroli, A.E., Lauro, R., Folli, F. & Sesti, G. (2005) C-174G polymorphism in the promoter of the interleukin-6 gene is associated with insulin resistance. *Diabetes Care*, **28**, 8, 2007-12.

- Castell, J. V., Geiger, T., Gross, V., Andus, T., Walter, E. & Hirano, T. (1988) Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte-stimulating factor in the rat. *European Journal of Biochemistry*, **177**, 2, 357–361.
- Chapman, C.M., Beilby, J.P., Humphries, S.E., Palmer, L.J., Thompson, P.L. & Hung, J. (2003) Association of an allelic variant of interleukin-6 with subclinical carotid atherosclerosis in an Australian community population. *European Heart Journal*, **24**, 16, 1494-9.
- Chen, Y., Ferguson-Smith, A.C., Newman, M.S., May, L.T., Sehgal, P.B. & Ruddle, F.H. (1987) Regional localization of the human beta 2-interferon gene. (Abstract) *American Journal of Human Genetics*, **41**:A161.
- Chiappelli, M., Tampieri, C., Tumini, E., Porcellini, E., Caldarera, C.M., Nanni, S., Branzi, A., Lio, D., Caruso, M., Hoffmann, E., Caruso, C. & Licastro, F. (2005) Interleukin-6 gene polymorphism is an age-dependent risk factor for myocardial infarction in men. *International Journal of Immunogenetics*, **32**, 6, 349-53.
- Christiansen, L., Bathum, L., Andersen-Ranberg, K., Jeune, B. & Christensen, K. (2004) Modest implication of interleukin-6 promoter polymorphisms in longevity. *Mechanisms of ageing and development*, **125**, 5, 391-5.
- Clay, F.E., Tarlow, J.K., Cork, M.J., Cox, A., Nicklin, M.J. & Duff, G.W. (1996) Novel interleukin-1 receptor antagonist exon polymorphisms and their use in allele-specific mRNA assessment. *Human Genetics*, **97**, 6, 723-6.
- Colotta, F., Re, F., Muzio, M., Bertini, R., Polentarutti, N., Sironi, M., Giri, J.G., Dower, S.K., Sims, J.E. & Mantovani, A. (1993) Interleukin-1 type II, receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science (Wash DC)*, **261**, 5120, 472-475.
- Cox, G. & Gauldie, J. (1997) Interleukin-6, in: *Cytokines in health and disease*, eds. Remick, D. & Friedland, J., Marcel Dekker Inc, New York, pp. 81-99.
- Dagenais, G.R., Robitaille, N.M., Lupien, P.J., Christen, A., Gingras, S., Moorjani, S., Meyer, F. & Rochon, J. (1990) First coronary heart disease event rates in relation to major risk factors: Quebec cardiovascular study. *The Canadian Journal of Cardiology*, **6**, 7, 274-80.
- Daly, L.E., Bourke, G.J. & McGilvray, J. (1991) *Interpretation and Uses of Medical Statistics*, 4th edition. Blackwell Science, Oxford.
- Danesh, J., Wheeler, J.G., Hirschfield, G.M., Eda, S., Eiriksdottir, G., Rumley, A., Lowe, G.D., Pepys, M.B. & Gudnason, V. (2004) C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *New England Journal of Medicine*, **350**, 14, 1387-97.
- Danis, V.A., Millington, M., Hyland, V.J. & Grennan, D. (1995) Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clinical and Experimental Immunology*, **99**, 2, 303-10.



- Dewberry, R., Holden, H., Crossman, D. & Francis, S. (2000) Interleukin-1 receptor antagonist expression in human endothelial cells and atherosclerosis. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **20**, 11, 2394-400.
- Dinarello, C. A. (1996) Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*, **87**, 6, 2095–2147.
- Dinarello, C. A. (2002) The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clinical and Experimental Rheumatology*, **20**, 5, Suppl 27, S1-13.
- Dinarello, C. A. (2005) Blocking IL-1 in systemic inflammation. *The Journal of Experimental Medicine*, **201**, 9, 1355-9.
- Eklund, C., Jahan, F., Pessi, T., Lehtimäki, T. & Hurme, M. (2003) Interleukin 1B gene polymorphism is associated with baseline C-reactive protein levels in healthy individuals. *European Cytokine Network*, **14**, 3, 168-71.
- El-Omar, E.M., Carrington, M., Chow, W.H., McColl, K.E.L., Bream, J.H., Young, H.A., Herrera, J., Lissowska, J., Yuan, C.C., Rothman, N., Lanyon, G., Martin, M., Fraumeni, J. F., Jr. & Rabkin, C.S. (2000) Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, **404**, 398-402.
- Endler, G., Marsik, C., Joukhadar, C., Marculescu, R., Mayr, F., Mannhalter, C., Wagner, O.F. & Jilka, B. (2004) The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism does not determine plasma interleukin-6 concentrations in experimental endotoxemia in humans. *Clinical Chemistry*, **50**, 1, 195-200.
- Falk, E., Shah, P.K. & Fuster, V. (1995) Coronary plaque disruption. *Circulation*, **92**, 3, 657-671.
- Fantuzzi, G. & Dinarello, C. A. (1996) The inflammatory response in interleukin-1beta-deficient mice: comparison with other cytokine-related knock-out mice. *Journal of Leukocyte Biology*, **59**, 489–93.
- Fattori, E., Cappelletti, M., Costa, P., Sellitto, C., Cantoni, L., Carelli, M., Faggioni, R., Fantuzzi, G., Ghezzi, P., & Poli, V. (1994) Defective inflammatory response in interleukin 6-deficient mice. *Journal of Experimental Medicine*, **180**, 1243–1250.
- Ferguson-Smith, A. C., Chen, Y.-F., Newman, M. S., May, L. T., Sehgal, P. B. & Ruddle, F.H. (1988) Regional localization of the interferon beta-2/B-cell stimulatory factor 2/hepatocyte stimulating factor gene to human chromosome 7p15-p21". *Genomics*, **2**, 203-208.
- Ferrari, S.L., Ahn-Luong, L., Garnerio, P., Humphries, S.E. & Greenspan, S.L. (2003) Two promoter polymorphisms regulating interleukin-6 gene expression are associated with circulating levels of C-reactive protein and markers of bone resorption in postmenopausal women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **88**, 1, 255-9.

Fey, G. H., & Gauldie, J. (1990) The acute phase response of the liver in inflammation. *Progress in Liver Diseases*, **9**, 89–116.

Field, A. (2000) *Discovering Statistics Using SPSS for Windows*. SAGE Publications Ltd., London.

Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J. S., Humphries, S. & Woo, P. (1998) The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Journal of Clinical Investigation*, **102**, 1369-1376.

Francis, S.E., Camp, N.J., Dewberry, R.M., Gunn, J., Syrris, P., Carter, N.D., Jeffery, S., Kaski, J.C., Cumberland, D.C., Duff, G.W. & Crossman, D.C. (1999) Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease. *Circulation*, **99**, 7, 861-6.

Fraser, G.E., Strahan, T.M., Sabate, J., Beeson, W.L. (1992) Kissinger, D. Effects of traditional coronary risk factors on rates of incident coronary events in a low-risk population. The Adventist Health Study. *Circulation*, **86**, 2, 406-13.

Gaudino, M., Di Castelnuovo, A., Zamparelli, R., Andreotti, F., Burzotta, F., Iacoviello, L., Gliuca, F., Alessandrini, F., Nasso, G., Donati, M.B., Maseri, A., Schiavello, R. & Possati, G. (2003) Genetic control of postoperative systemic inflammatory reaction and pulmonary and renal complications after coronary artery surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, **126**, 4, 1107-12.

Georges, J.L., Loukaci, V., Poirier, O., Evans, A., Luc, G., Arveiler, D., Ruidavets, J.B., Cambien, F., Tiret, L. (2001) Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. *Journal of molecular medicine*, **79**, 5-6, 300-5.

Gibbons, R.J., Abrams, J., Chatterjee, K., Daley, J., Deedwania, P.C., Douglas, J.S., Ferguson, T.B. Jr, Fihn, S.D., Fraker, T.D. Jr, Gardin, J.M., O'Rourke, R.A., Pasternak, R.C., Williams, S.V., Gibbons, R.J., Alpert, J.S., Antman, E.M., Hiratzka, L.F., Fuster, V., Faxon, D.P., Gregoratos, G., Jacobs, A.K. & Smith, S.C. Jr. American College of Cardiology; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Committee on the Management of Patients With Chronic Stable Angina. (2003) ACC/AHA 2002 Guideline Update for the Management of Patients With Chronic Stable Angina—Summary Article: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Chronic Stable Angina). *Circulation*, **107**, 149-158.

di Giovine, F.S., Takhsh, E., Blakmore, A.I.F. & Duff, G.W. (1992) Single base polymorphism at in the human interleukin-1b gene. *Human Molecular Genetics*, **1**, 6, 450.

Gottlieb, S., Boyko, V., Zahger, D., Balkin, J., Hod, H., Pelled, B., Stern, S. & Behar S. (1996) Smoking and prognosis after acute myocardial infarction in the thrombolytic era (Israeli Thrombolytic National Survey). *Journal of the American College of Cardiology*, **28**, 6, 1506-13.

Granowitz, E.V., Clark, B.D., Vannier, E., Callahan, M.V. & Dinarello, C.A. (1992) Effects of interleukin-1 (IL-1) blockade on cytokine synthesis: I. IL-1 receptor antagonist inhibits IL-1-induced cytokine synthesis and blocks the binding of IL-1 to its type II receptor on human monocytes. *Blood*, **79**, 2356–2363.

GraphPad Software. (2005). [Online]. Available from: <<http://www.graphpad.com/quickcalcs/chisquared1.cfm>> [July 2005]

Hacker, U.T., Erhardt, S., Tschop, K., Jelinek, T. & Endres S. (2001) Influence of the IL-1Ra gene polymorphism on in vivo synthesis of IL-1Ra and IL-1beta after live yellow fever vaccination. *Clinical and experimental immunology*, **125**, 3, 465-9.

Henderson, B. & Higgs, G.A. (2000) Targets for modulating cytokine responses in inflammatory and infectious diseases, in: *Novel Cytokine Inhibitors*, eds. Higgs, G.A. & Henderson, B., Birkhäuser Verlag AG, Basel, pp 1-8.

Hirano, T., Taga, T., Nakano, N., Yasukawa, K., Kashiwamura, S., Shimizu, K., Nakajima, K., Pyun, K.H., & Kishimoto, T. (1985) Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **82**, 5490–5494.

Hirsch, E., Irikura, V.M., Paul, S.M. & Hirsh, D. (1996) Functions of interleukin-1 receptor antagonist in gene knockout and overproducing mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **93**, 11008–11013.

Hong, M.K., Park, S.W., Lee, C.W., Kim, Y.H., Kim, J.H., Song, J.M., Kang, D.H., Song, J.K., Kim, J.J. & Park, S.J. (2003) Prospective comparison of coronary artery remodeling between acute coronary syndrome and stable angina in single-vessel disease: correlation between C-reactive protein and extent of arterial remodeling. *Clinical Cardiology*, **26**, 4, 169-72.

Hong, M.K., Mintz, G.S., Lee, C.W., Kim, Y.H., Lee, S.W., Song, J.M., Han, K.H., Kang, D.H., Song, J.K., Kim, J.J., Park, S.W. & Park, S.J. (2004) Comparison of coronary plaque rupture between stable angina and acute myocardial infarction: a three-vessel intravascular ultrasound study in 235 patients. *Circulation*, **110**, 8, 928-33.

Hulkkonen, J., Laippala, P. & Hurme M. (2000) A rare allele combination of the interleukin-1 gene complex is associated with high interleukin-1 beta plasma levels in healthy individuals. *European cytokine network*, **11**, 2, 251-5.

Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe, E. & Miller GJ. (2001) The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *European heart journal*, **22**, 24, 2219-20.

Hurme, M. & Santtila S. (1998) IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are coordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *European Journal of immunology*, **28**, 8, 2598-602.

Hurme, M., Lehtimäki, T., Jylhä, M., Karhunen, P.J. & Hervonen, A. (2005) Interleukin-6 -174G/C polymorphism and longevity: a follow-up study. *Mechanisms of ageing and development*, **126**, 3, 417-8.

Iacoviello, L., Di Castelnuovo A., Gattone, M., Pezzini A., Assanelli, D., Lorenzet, R., Del Zotto, E., Colombo, M., Napoleone, E., Amore, C., D'Orazio, A., Padovani, A., de Gaetano, G., Giannuzzi, P. & Donati M.B.; IGGI Investigators. (2005) Polymorphisms of the interleukin-1beta gene affect the risk of myocardial infarction and ischemic stroke at young age and the response of mononuclear cells to stimulation in vitro. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **25**, 1, 222-7.

Jenny, N.S., Tracy, R.P., Ogg, M.S., Luong, A., Kuller, L.H., Arnold, A.M., Sharrett, A.R. & Humphries, S.E. (2002) In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G>C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **22**, 12, 2066-71.

Jones, K.G, Brull, D.J., Brown, L.C., Sian, M., Greenhalgh, R.M., Humphries, S.E. & Powell, J.T. (2001) Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation*, **103**, 18, 2260-5.

Kelberman, D., Fife, M., Rockman, M.V., Brull, D.J., Woo, P. & Humphries, S.E. (2004a) Analysis of common IL-6 promoter SNP variants and the AnTn tract in humans and primates and effects on plasma IL-6 levels following coronary artery bypass graft surgery. *Biochimica et biophysica acta*, **1688**, 2, 160-7.

Kelberman, D., Hawe, E., Luong LA, Mohamed-Ali, V., Lundman, P., Tornvall, P., Aillaud, M.F., Juhan-Vague, I., Yudkin JS, Margaglione, M., di Minno, G., Tremoli, E. & Humphries SE; HIFMECH study group. (2004b) Effect of Interleukin-6 promoter polymorphisms in survivors of myocardial infarction and matched controls in the North and South of Europe. The HIFMECH Study. *Thrombosis and haemostasis*, **92**, 5, 1122-8.

Kilpinen, S., Hulkkonen, J., Wang, X.Y. & Hurme, M. (2001) The promoter polymorphism of the interleukin-6 gene regulates interleukin-6 production in neonates but not in adults. *European cytokine network*, **12**, 1, 62-8.

Kishimoto, T. (1989) The biology of interleukin-6. *Blood*, **74**, 1-10.

Komatsu, Y., Tai, H., Galicia, J.C., Shimada, Y., Endo, M., Akazawa, K., Yamazaki, K. & Yoshie H. (2005) Interleukin-6 (IL-6)--373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6 level. *Tissue Antigens*, **65**, 1, 110-4.

Kopf, M., Baumann, H., Freer, G., Freudenberg, M., Lamers, M., Kishimoto, T., Zinkernagel, R., Bluethmann, H. & Kohler, G. (1994) Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature*, **368**, 339-342.

Kopf, M., Ramsay, A., Brombacher, F., Baumann, H., Freer, G., Galanos, C., Gutierrez Ramos, J. C. & Kohler, G. (1995) Pleiotropic defects of IL-6-deficient mice including early hematopoiesis, T and B cell function, and acute phase responses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **762**, 308–318.

Kozak, W., Kluger, M. J., Soszynski, D., Conn, C. A., Rudolph, K., Leon, L. R. & Zheng, H. (1998) IL-6 and IL-1 beta in fever. Studies using cytokine-deficient (knockout) mice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **856**, 33–47.

Latkovskis, G., Licis, N. & Kalnins U. (2004a) C-reactive protein levels and common polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster and interleukin-6 gene in patients with coronary heart disease. *European journal of immunogenetics*, **31**, 5, 207-13.

Latkovskis, G., Licis, N., Berzina, M., Berzina, L. & Kalnins, U. (2004b) Association of IL-1 beta (+3954) T allele with development of myocardial infarction in younger age [abstract]. *Atherosclerosis Supplements*, **5**, 1, 85.

Latkovskis, G., Licis, N., Berzina, M., Kreicburga, L. & Kalnins, U. (2004c) Association of IL-1B (+3954) T allele with development of myocardial infarction in younger age interacts with hypercholesterolemia and family history of myocardial infarction [abstract]. *Atherosclerosis Supplements*, **5**, 4, 17-18.

Latkovskis, G., Licis, N., Juhneveica, D., Berzina, M., Zabunova, M., Erglis, A. & Kalnins, U. (2005a) Haplotypes of promotor region in interleukin-6 gene and levels of C-reactive protein and fibrinogen [abstract]. *European Heart Journal*, **26** (Abstract Supplement), 137.

Latkovskis, G., Tretjakovs, P., Licis, N., Jurka, D., Juhneveica, D., Berzina, M., Kreicburga, L., Zabunova, M. & Kalnins, U. (2005b) Interleukin-6 (-174) G/C polymorphism and insulin resistance in patients with coronary heart disease [abstract]. *Atherosclerosis Supplements*, **6**, 1, 58.

Latkovskis, G., Licis, N., Zabunova, M., Berzina, M. & Erglis, A. (2006) Haplotypes of interleukin-6 promotor correlate with cholesterol levels in patients treated with statins [abstract]. *Atherosclerosis Supplements* [in print].

Lennard, A.C. (1995) Interleukin-1 receptor antagonist. *Critical reviews in immunology*, **15**, 1, 77-105.

Libby, P. (2001) Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*, **104**, 3, 365-72.

Libby, P. & Ridker, P.M. (1999) Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice. *Circulation*, **100**, 11, 1148-50.

Licastro, F., Chiappelli, M., Caldarera CM, Tampieri, C., Nanni, S., Gallina, M. & Branzi A. (2004) The concomitant presence of polymorphic alleles of interleukin-1beta, interleukin-6 and apolipoprotein E is associated with an increased risk of myocardial infarction in elderly men. Results from a pilot study. *Mechanisms of ageing and development*, **125**, 8, 575-9.

Lindmark, E., Diderholm, E., Wallentin, L. & Siegbahn A. (2001) Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or non-invasive strategy. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, **286**, 17, 2107-13.

Mantovani, L., Mertelsmann, R., Lindemann, A., Lubbert, M., and Henschler, R. (1998) Differential regulation of interleukin-6 expression in human fibroblasts by tumor necrosis factor-alpha and lymphotoxin. *FEBS Letters*, **429**, 426.

Manzoli A., Andreotti, F., Varlotta, C., Mollicelli, N., Verde, M., van de Greef, W., Sperti, G. (1999) Maseri A. Allelic polymorphism of the interleukin-1 receptor antagonist gene in patients with acute or stable presentation of ischemic heart disease. *Cardiologia*, **44**, 9, 825-30.

Marculescu, R., Mlekusch, W., Exner, M., Sabeti, S., Michor, S., Rumpold, H., Mannhalter, C., Minar, E., Wagner, O. & Schillinger M. (2003) Interleukin-1 cluster combined genotype and restenosis after balloon angioplasty. *Thrombosis and haemostasis*, **90**, 3, 491-500.

Margaglione, M., Bossone A., Cappucci, G., Colaizzo, D., Grandone, E. & Di Minno, G. (2001) The effect of the interleukin-6 c/g-174 polymorphism and circulating interleukin-6 on fibrinogen plasma levels. *Haematologica*, **86**, 2, 199-204.

Matrisian, L.M. (1992) The matrix degrading metalloproteinases. *Bioessays*, **14**, 455-463.

May, L.T., Ghrayeb, J., Santhanam, U., Tatter, S.B., Sthoeger, Z., Helfgott, D.C., Chiorazzi, N., Grienering, G. & Sehgal, P. B. (1988) Synthesis and secretion of multiple forms of beta 2-interferon/B-cell differentiation factor 2/hepatocyte-stimulating factor by human fibroblasts and monocytes. *The Journal of biological chemistry*, **263**, 7760-7766.

Momiyama, Y., Hirano, R., Taniguchi, H., Nakamura, H. & Ohsuzu F. (2001) Effects of interleukin-1 gene polymorphisms on the development of coronary artery disease associated with Chlamydia pneumoniae infection. *Journal of the American College of Cardiology*, **38**, 3, 712-7.

Moreno, P.R., Falk, E., Palacios, I.F., Newell, J.B., Fuster, V. & Fallon, J.T. (1994) Macrophage infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *Circulation*, **90**, 775-778.

Murray, C.J.L. & Lopez, A.D., eds. (1996) *The Global Burden of Disease: A Comprehensive Assessment of Mortality and Disability from Diseases, Injuries, and Risk Factors in 1990 and Projected to 2020*. Mass: Harvard School of Public Health, Boston.

Murray, C.J.L. & Lopez, A.D. (1997) Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet*, **349**, 9061, 1269-76.

Nakamura, M., Nishikawa, H., Mukai, S., Setsuda, M., Nakajima, K., Tamada, H., Suzuki, H., Ohnishi, T., Kakuta, Y., Nakano, T. & Yeung A.C. (2001) Impact of coronary artery remodeling on clinical presentation of coronary artery disease: an intravascular ultrasound study. *Journal of the American College of Cardiology*, **37**, 1, 63-9.

Navab M., Anantharamaiah G.M. & Fogelman A.M. (2005) The role of high-density lipoprotein in inflammation. *Trends in cardiovascular medicine*, **15**, 158-161.

Nauck, M., Winkelmann, B.R., Hoffmann, M.M., Bohm, B.O., Wieland, H. & Marz, W. (2002) The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction. *Journal of molecular medicine*, **80**, 8, 507-13.

Nicklin, M. J. H., Weith, A. & Duff, G. W. (1994) A physical map of the region encompassing the human interleukin-1-alpha, interleukin-1-beta, and interleukin-1 receptor antagonist genes. *Genomics*, **19**, 382-384.

Nissen, S.E., Tuzcu, E.M., Schoenhagen, P., Crowe, T., Sasiela WJ, Tsai, J., Orazem, J., Magorien, R.D., O'Shaughnessy, C. & Ganz P; Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) Investigators. (2005) Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*, **352**, 1, 29-38.

Olivieri, F., Bonafe, M., Cavallone, L., Giovagnetti, S., Marchegiani, F., Cardelli, M., Mugianesi, E., Giampieri, C., Moresi, R., Stecconi, R., Lisa, R. & Franceschi C. (2002) The -174 C/G locus affects in vitro/in vivo IL-6 production during aging. *Experimental gerontology*, **37**, 2-3, 309-14.

Olomolaiye, O.O., Wood, N.A.P. & Bidwell, J.L. (1997) Identification of a novel polymorphism in the human IL-6 promoter region. *Immunology*, **92** (Suppl 1), 66 (Abstract 15.32).

Pallant, J. (2001) *SPSS Survival Manual: A Step by Step Guide to Data Analysis Using SPSS for Windows (Version 10)* p.304. Open University Press, Buckingham.

Patti, G., Di Sciascio, G., D'Ambrosio A., Dicuonzo, G., Abbate A., Dobrina A. (2002a) Prognostic value of interleukin-1 receptor antagonist in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *The American Journal of Cardiology*, **89**, 4, 372-6.

Patti, G., D'Ambrosio, A., Dobrina, A., Dicuonzo, G., Giansante, C., Fiotti, N., Abbate, A., Guarneri, G. & Di Sciascio G. (2002b) Interleukin-1 receptor antagonist: a sensitive marker of instability in patients with coronary artery disease. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, **14**, 2, 139-43.

Pearson, T.A., Mensah, G.A., Alexander, R.W., Anderson, J.L., Cannon, R.O. 3rd, Criqui, M., Fadl, Y.Y., Fortmann, S.P., Hong, Y., Myers, G.L., Rifai, N., Smith, S.C. Jr, Taubert, K., Tracy, R.P. & Vinicor, F.; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, **107**, 3, 499-511.

Petrie A. & Sabin C. (2000) Medical statistics at a glance. Blackwell Science, Oxford.

Plaut, M., Pierce, J., Watson, C., Hanley-Hyde, J., Richard, N. & Paul, W. E. (1989) Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of Fcepsilon RI or to calcium ionophores. *Nature*, **339**, 64-67.

Pociot, F., Molvig, J., Wogensen, L., Worsaae, H. & Nerup, J. A Taq polymorphism in the human interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) gene correlates with IL-1 $\beta$  secretion *in vitro*. *European journal of clinical investigation*, **22**, 396-402.

Podor, T. J., Jirik, F. R., Loskutoff, D. J., Carson, D. A. & Lotz, M. (1989) Human endothelial cells produce IL-6. Lack of responses to exogenous IL-6. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **557**, 374-385.

Rasheed, Q., Nair, R.N., Sheehan, H.M. & Hodgson, J.M. (1995) Coronary artery plaque morphology in stable angina and subsets of unstable angina: an *in vivo* intracoronary ultrasound study. *International journal of cardiac imaging*, **11**, 2, 89-95.

Rauramaa, R., Vaisanen, S.B., Luong, L.A., Schmidt-Trucksass, A., Penttila, I.M., Bouchard, C., Toyry, J. & Humphries, S.E. (2000) Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **20**, 12, 2657-62.

Ray, K.K., Camp, N.J., Bennett, C.E., Francis, S.E. & Crossman, D.C. Genetic variation at the interleukin-1 locus is a determinant of changes in soluble endothelial factors in patients with acute coronary syndromes. *Clinical science (London, England)*, **103**, 3, 303-10.

Ridker, P.M. (2001) High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*, **103**, 13, 1813-8.

Ridker, P.M., Rifai, N., Clearfield, M., Downs, J.R., Weis, S.E., Miles, J.S., Gotto, A.M. Jr; Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators. (2001) Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *New England Journal of Medicine*, **344**, 1959-1965.



- Ridker, P.M., Cannon, C.P., Morrow, D., Rifai, N., Rose, L.M., McCabe, C.H., Pfeffer, M.A. & Braunwald, E.; Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) Investigators. (2005) C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *New England Journal of Medicine*, **352**, 1, 20-8.
- Rivera-Chavez, F.A., Peters-Hybki, D.L., Barber, R.C. & O'Keefe, G.E. (2003) Interleukin-6 promotor haplotypes and interleukin-6 cytokine responses. *Shock*, **20**, 3, 218-23.
- Ross, R. (1999) Atherosclerosis: an inflammatorisky disease. *New England Journal of Medicine*, **340**, 115-126.
- Rothenbacher, D., Brenner, H., Mertens, T., Hoffmann, M.M., Hoffmeister, A., Koenig, W. (2005) Prognostic value of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and cytomegalovirus seroprevalence in patients with coronary artery disease. *BMC cardiovascular disorders [electronic resource]*, **5**, 1, 10.
- Sans, S., Kesteloot, H. & Kromhout D. (1997) The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. *European Heart Journal*, **18**, 1231-1248
- Santtila, S., Savinainen, K. & Hurme, M. (1998) Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN\*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scandinavian journal of immunology*, **47**, 3, 195-8.
- Seino, Y., Ikeda, U., Ikeda, M., Yamamoto, K., Misawa, Y., Hasegawa, T., Kano, S. & Shimada, K. (1994) Interleukin 6 gene transcripts are expressed in human atherosclerotic lesions. *Cytokine*, **6**, 87-91.
- Seripa, D., Dobrina, A., Margaglione, M., Matera, M.G., Gravina, C., Vecile, E. & Fazio, V.M.. (2003) Relevance of interleukin-1 receptor antagonist intron-2 polymorphism in ischemic stroke. *Cerebrovascular diseases*, **15**, 4, 276-81.
- Simon, A.D., Yazdani, S., Wang, W., Schwartz, A. & Rabbani LE. (2000) Circulating levels of IL-1beta, a prothrombotic cytokine, are elevated in unstable angina versus stable angina. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, **9**, 3, 217-22.
- van Snick, J. (1990) IL-6: an overview. *Annual review of immunology*, **8**, 253-27.
- Sposito A.C., Lemos P.A., Maranhao R.C., Mansur, A.P., Cesar, L.A. & Ramires, J.A. (2003) The pre-existence of an acute coronary event predicts differences in biological parameters and clinical evolution among patients with longstanding stable angina. *International journal of cardiology*, **91**, 193-200.
- Steinkasserer, A., Spurr, N.K., Cox, S., Jeggo, P. & Sim, R.B. (1992) The human IL-1 receptor antagonist gene (IL1RN) maps to chromosome 2q14-q21, in the region of the IL-1-alpha and IL-1-beta loci. *Genomics*, **13**, 654-657.

- Suzuki, H., Shibano, K., Okane, M., Kono, I., Matsui, Y., Yamane, K. & Kashiwagi H. (1989) Interferon-gamma modulates messenger RNA levels of c-sis (PDGF-B chain), PDGF-A chain and IL-1 beta genes in human vascular endothelial cells. *The American Journal of Pathology*, **134**, 35-43.
- Tarlow, J.K., Blakemore, A.I.F., Lennard, A., Solari, R., Hughes, H.N., Steinkasserer, A. & Duff, G.W. (1993) Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Human genetics*, **91**, 403-404.
- Terry, C.F., Loukaci, V. & Green FR. (2000) Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**, 24, 18138-44.
- Thom, T., Haase, N., Rosamond, W., Howard, V.J., Rumsfeld, J., Manolio, T., Zheng, Z.J., Flegal, K., O'Donnell, C., Kittner, S., Lloyd-Jones, D., Goff, D.C. Jr, Hong, Y., Adams, R., Friday, G., Furie, K., Gorelick, P., Kissela, B., Marler, J., Meigs, J., Roger, V., Sidney, S., Sorlie, P., Steinberger, J., Wasserthiel-Smoller, S., Wilson, M. & Wolf, P.; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. (2006) Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. **113**, 6, e85-151.
- von der Thusen, J.H., Kuiper, J., van Berkel, T.J. & Biessen, E.A. (2003) Interleukins in atherosclerosis: molecular pathways and therapeutic potential. *Pharmacological reviews*, **55**, 133-166.
- Vamvakopoulos, J., Green, C. & Metcalfe S. (2002) Genetic control of IL-1beta bioactivity through differential regulation of the IL-1 receptor antagonist. *European Journal of Immunology*, **32**, 10, 2988-96.
- Vickers, M.A., Green, F.R., Terry, C., Mayosi, B.M., Julier, C., Lathrop, M., Ratcliffe, P.J., Watkins, H.C. & Keavney, B. (2002) Genotype at a promotor polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein. *Cardiovascular Research*, **53**, 4, 1029-34.
- Vohnout, B., Di Castelnuovo, A., Trotta, R., D'Orazi, A., Panniteri, G., Montali, A., Donati MB, Arca, M. & Iacoviello L. (2003) Interleukin-1 gene cluster polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Haematologica*, **88**, 1, 54-60.
- Wilson P.W. (2004) Assessing coronary heart disease risk with traditional and novel risk factors. *Clinical Cardiology*, **27** ( Suppl 3):III7-11.
- Witkin, S.S., Gerber, S. & Ledger, W.J. (2002) Influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease. *Clinical Infectious Diseases*, **34**, 2, 204-9.
- Yang, Z., Shen, W. & Zhang D. (2003) Relationship between coronary arterial remodeling and clinical presentation. *Chinese medical journal (Engl)*, **116**, 2, 263-6.

Yazdani, S., Simon AD, Vidhun, R., Gulotta, C., Schwartz, A. & Rabbani LE. (1998) Inflammatorisky profile in unstable angina versus stable angina in patients undergoing percutaneous interventions. *American Heart Journal*, **136**, 2, 357-61.

Yusuf S., Hawken S., Ounpuu S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., McQueen, M., Budaj, A., Pais, P., Varigos, J. & Lisheng, L.; INTERHEART Study Investigators. (2004) Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*, **364**, 937-52.

Zee, R.Y., Lunze, K., Lindpaintner, K. & Ridker, P.M. (2001) A prospective evaluation of the interleukin-1 receptor antagonist intron 2 gene polymorphism and the risk of myocardial infarction. *Thrombosis and haemostasis*, **86**, 5, 1141-3.