

© Коллектив авторов, 2015 г.
УДК [616.379-008.64:575]:577.113.5

**М. В. Ким, С. А. Скорюкова,
А. А. Быстрова, Е. И. Баранова,
С. Н. Пчелина**

ПОЛИМОРФИЗМ Q192R ГЕНА ПАРАОКСОНАЗЫ 1 И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ АТОРВАСТАТИНОМ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова; Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) — одно из наиболее распространенных заболеваний. Частыми осложнениями которого являются макрососудистые, обусловленные атеросклерозом. Среди факторов сердечно-сосудистого риска наиболее важное значение придается атерогенным изменениям липидного спектра крови. Дислипидемия у пациентов с СД 2 типа имеет свои особенности и характеризуется триадой: значительным повышением уровня триглицеридов, увеличением наиболее атерогенных «мелких, плотных» частиц ХС ЛПНП и снижением уровня антиатерогенных липопротеинов высокой плотности. Национальные стандарты лечения больных сахарным диабетом Российской Федерации (2015) [1] и США (2015) [2] у больных сахарным диабетом постулируют об обязательном использовании ингибиторов 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим Аредуктазы. Обусловлено это тем, что многочисленные исследования, проведенные у больных сахарным диабетом 2 типа (4S, CARE, ASCOT) показали значимое уменьшения рисков сердечно-сосудистых заболеваний, а также смертности у больных сахарным диабетом 2 типа на фоне лечения статинами. Вместе с тем, далеко не все пациенты с СД 2 типа на фоне лечения достигают целевых значений показателей липидного спектра крови, а эффективность терапии статинами у пациентов различается. Имеются данные о том, что индивидуальная вариабельность ответа на терапию статинами определяется генетическими факторами, ведущую роль среди которых играют гены, участвующие в липидном метаболизме. Активация системы перекисного окисления липидов играет большую роль в развитии и прогрессировании атеросклероза при СД 2 типа. Ключевым ферментом данной системы является параоксоназа 1, которая предотвращает формирование окисленных

форм ЛПНП с высокой атерогенностью. Известно, что активность фермента генетически детерминирована и варианты Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 могут обуславливать не только формирование атерогенных фракций липидов, но и эффективность гипополипидемической терапии [4, 8]. Однако данные этих исследований носят противоречивый характер.

В крупном проспективном исследовании Lipoprotein and Coronary Atherosclerosis Study изучена взаимосвязь полиморфизма Q192R гена параоксоназы 1 с тяжестью, прогрессированием сердечно-сосудистых заболеваний, уровнями липидов в плазме крови, клиническими событиями и ответом на лечение флувастатином у 356 человек. У обследованных был оценен липидный спектр крови натощак, а также результаты коронарографии исходно и через 2,5 года на фоне лечения флувастатином (либо плацебо). Исходный уровень липидов плазмы крови и их уровень спустя 2,5 года постоянной терапии флувастатином в зависимости от генотипов существенно не различался. Также не было выявлено взаимосвязи между уровнем липидов в плазме крови, результатами ангиографических исследований и наличием сердечно-сосудистых событий в зависимости от различных генотипов. Таким образом, в этом исследовании не было выявлено связи генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 с тяжестью, прогрессированием атеросклероза, его осложнениями и ответом на лечение флувастатином [9].

RanFu et al. в Китае в 2008 г. провели исследование у больных ишемической болезнью сердца (ИБС). 236 пациентов с ИБС получали 12 недель симвастатин в дозе 20 мг в сутки. Не выявлено существенных различий между показателями липидного спектра крови до лечения статинами у больных с различными генотипами Q192R полиморфизма гена *PN1*. На фоне лечения симвастатином уровень ХС ЛПВП был выше у носителей генотипа RR по сравнению с этим показателем у носителей QR генотипа. H. Z. Mirdamadi et al. в 2008 г. установили, что у носителей генотипов R192R и Q192R на фоне терапии статинами отмечено более выраженное снижение уровня триглицеридов по сравнению с этим показателем у носителей QQ генотипа.

Другие авторы не выявили существенных различий в эффективности терапии статинами в зависимости от аллельного варианта Q192R у пациентов с гиперхолестеринемией [5].

У больных сахарным диабетом 2 типа изучена взаимосвязь терапии статинами и активности фермента параоксоназы 1 [3]. Однако, в доступной нам литературе не найдено публикаций об эффективности терапии статинами у пациентов с сахарным диабетом 2 типа — носителей различных генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1.

Исходя из этого, целью настоящего исследования было оценить динамику показателей липидного спектра крови под влиянием терапии аторвастатином больных сахарным диабетом 2 типа с различными генотипами Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 для выявления генетических предикторов эффективности лечения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

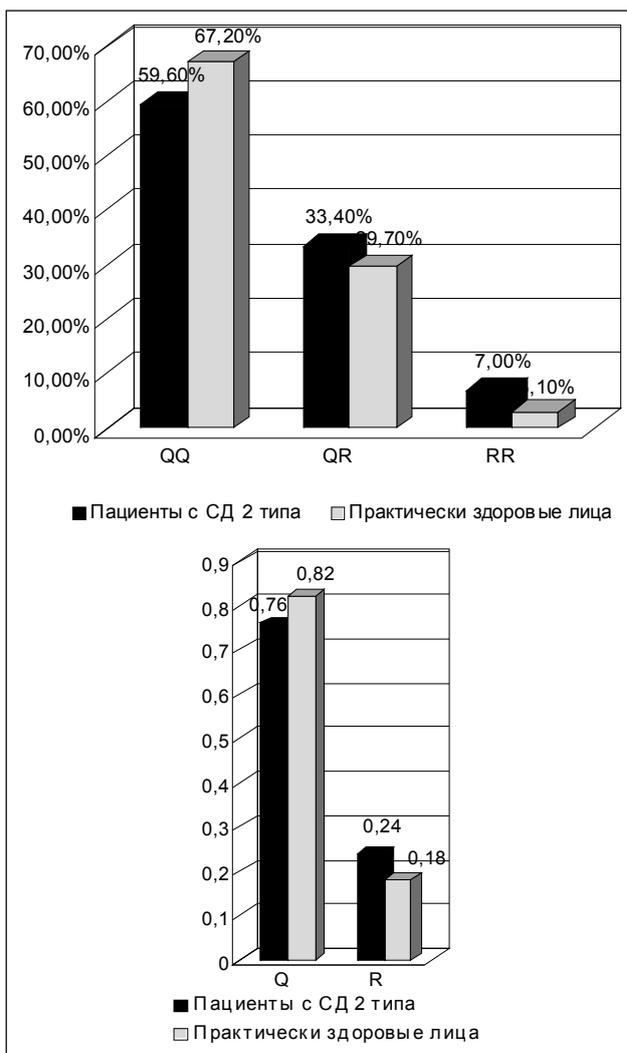
Обследовано 386 пациентов с СД 2 типа (299 женщин и 87 мужчин) в возрасте от 35 до 80 лет и 187 практически здоровых лиц (146 женщин и 41 мужчина) в возрасте от 18 до 69 лет. Возраст обследованных составил $59,34 \pm 0,30$ лет и $40,42 \pm 0,62$ лет, соответственно. В исследование включены были лишь пациенты с СД 2 типа, которые не получали гиполипидемическую терапию как минимум в течение 3-х месяцев до включения в исследование. Все больные принимали стабильную сахароснижающую, антигипертензивную и антиангинальную терапию, имели уровень гликированного гемоглобина $7,45 \pm 0,08$ % и находились в состоянии эутиреоза. В исследование не включались пациенты с тяжелыми осложнениями СД, со значимой сопутствующей патологией, в том числе с гипотиреозом. У всех больных проведена оценка антропометрических данных, уровня гликированного гемоглобина, параметров липидного спектра крови, молекулярно-генетическое исследование. После оценки вышеперечисленных параметров пациентам с выявленной дислипидемией была начата гиполипидемическая терапия аторвастатином в дозе 20 мг в сутки. Через 3 месяца проведена оценка показателей липидного спектра крови на фоне лечения аторвастатином и выполнена статистическая обработка данных.

Для исследования показателей липидного спектра проводился забор венозной крови утром натощак не менее, чем через 12 часов после последнего приема пищи. Концентрация ОХ, ТГ, ХС ЛПВП определялась в сыворотке крови ферментным методом на биохимическом анализаторе COBASINTEGRA 400 фирмы Roche (Швейцария), с использованием реагентов, калибраторов и контролей указанной фирмы, единицы измерения – ммоль/л. Содержание ХС ЛПОНП определяли расчетным методом по формуле $ХС\ ЛПОНП = ТГ / 2,2$ (ммоль/л) и ХС ЛПНП по формуле Friedewald $ХС\ ЛПНП = ОХС - (ХС\ ЛПВП + ТГ / 2,2)$, а КА по формуле $КА = (ОХС - ХС\ ЛПВП) / ХС\ ЛПВП$. Уровень гликированного гемоглобина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на анализаторе Bio-RadD-10, единицы измерения %. Для исключения патологии функции щитовидной железы как возможной причины нарушения липидного обмена проводилось определение тиреотропного гормона на иммунофермент-

ном анализаторе ARCHITECT® i 1000SR компании Abbott (США), единицы измерения мМЕ/л.

Для идентификации полиморфных аллелей Q и R в гене *PON 1* (полиморфизм Q192R) нами был использован метод, основанный на полимеразной цепной реакции и рестрикционном анализе.

Статистический анализ полученных данных проводился при помощи программы SPSS версия 16.0 для Windows. Для оценки достоверности различий исследуемых параметров между группами применялся непараметрический критерий Манна-Уитни. Для оценки различий распределения частоты признака использовался метод χ^2 , точный тест Фишера, эффективности терапии статинами – тест Уилкоксона. Статистически достоверным считали различия при значениях $p < 0,05$. Данные в таблицах представлены в виде: среднее значение \pm стандартная ошибка среднего.



Распределение генотипов и встречаемость аллелей Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 у больных сахарным диабетом 2 типа и у практически здоровых

Таблица 1

Показатели липидного спектра крови у практически здоровых лиц – носителей QQ, QR и RR генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1

Показатель	Генотипы			p
	QQ (n=116) 1	QR (n=50) 2	RR (n=3) 3	
Общий холестерин, ммоль/л	4,94±0,10 (m=4,88)	5,12±0,13 (m=5,06)	4,92±1,17 (m=4,00)	p _{1,2} =0,20 p _{1,3} =0,59 p _{2,3} =0,37
Триглицериды, ммоль/л	0,89±0,04 (m=0,76)	1,05±0,07 (m=0,99)	1,50±0,48 (m=1,96)	p _{1,2} =0,04 p _{1,3} =0,21 p _{2,3} =0,29
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,50±0,03 (m=1,52)	1,47±0,05 (m=1,48)	1,17±0,12 (m=1,13)	p _{1,2} =0,52 p _{1,3} =0,047 p _{2,3} =0,18
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,00±0,09 (m=2,85)	3,17±0,12 (m=3,11)	3,05±1,09 (m=2,07)	p _{1,2} =0,14 p _{1,3} =0,59 p _{2,3} =0,39
ХС ЛПОНП, ммоль/л	0,40±0,01 (m=0,34)	0,47±0,03 (m=0,45)	0,69±0,21 (m=0,89)	p _{1,2} =0,045 p _{1,3} =0,21 p _{2,3} =0,29
Коэффициент атерогенности	2,38±0,09 (m=2,15)	2,74±0,18 (m=2,28)	3,32±1,14 (m=3,04)	p _{1,2} =0,13 p _{1,3} =0,37 p _{2,3} =0,56

Примечание: p – достоверность, n – количество практически здоровых лиц, m – медиана.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение генотипов и встречаемость аллелей Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 у больных сахарным диабетом 2 типа и у практически здоровых лиц не различались (рисунок). При сопоставлении показателей липидограммы у пациентов с СД 2 типа – носителей QQ, QR и RR генотипов гена *PON1* значимых различий между группами выявлено не было. У практически здоровых – носителей генотипа QR гена параоксоназы 1 наблюдались более высокие значения холестерина липопротеинов очень низкой плотности и триглицеридов по сравнению с этими показателями липидного спектра крови у носителей QQ генотипа. Кроме того, у носителей QQ уровень холестерина липопротеинов высокой плотности был выше по сравнению с этим показателем липидного спектра крови у носителей RR генотипа (табл. 1). У пациентов с сахарным диабетом 2 типа – носителей RR генотипа, в отличие от носителей QQ и QR генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1, на фоне терапии аторвастатином в течение трех ме-

сяцев отмечено лишь снижение уровней общего холестерина и липопротеинов низкой плотности, а значения триглицеридов и холестерина липопротеинов очень низкой плотности достоверно не изменились (табл. 2). У носителей QQ генотипа Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 отмечено большее снижение уровня общего холестерина, чем у пациентов – носителей QR генотипа через 3 месяца лечения аторвастатином (p=0,031) (табл. 3).

В результате проведения молекулярно-генетического исследования было установлено, что у больных сахарным диабетом 2 типа распределение генотипов и встречаемость аллелей Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 суще-

ственно не отличались от распространенности исследуемых генотипов и аллелей у практически здоровых в группе контроля, что соответствует данным ранее проведенных исследований [9].

У пациентов с сахарным диабетом 2 типа – носителей RR генотипа, в отличие от носителей QQ и QR генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1, на фоне терапии аторвастатином в течение трех месяцев отмечено лишь снижение уровней общего холестерина и липопротеинов низкой плотности, а значения триглицеридов и холестерина липопротеинов очень низкой плотности не изменились. Через 3 месяца лечения аторвастатином у носителей QQ генотипа Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 отмечено более значимое снижение уровня общего холестерина, чем у пациентов – носителей QR генотипа. Данные ранее проведенных исследований противоречивы. D. S. Christidis et al. в 2007 г. не выявили существенных различий в эффективности терапии статинами в зависимости от аллельного варианта Q192R. Вместе с тем, в исследовании, проведенном H. Z. Mirdamadi в 2008 г. показано, что у носителей генотипов R192R и Q192R на фоне те-

Таблица 2

Показатели липидного спектра крови у больных СД 2 типа – носителей различных генотипов Q192R гена *PON1* до и на фоне лечения аторвастатином

Параметры, ммоль/л	QQ		P	QR		P	RR		P
	исходно	через 3 месяца		исходно	через 3 месяца		исходно	через 3 месяца	
Общий холестерин	7,03±0,13	5,57±0,14	0,0001	6,56±0,20	5,95±0,26	0,001	7,16±0,40	5,83±0,29	0,007
Триглицериды	2,42±0,13	1,98±0,12	0,0001	2,76±0,23	2,26±0,20	0,0001	2,39±0,40	1,82±0,23	0,182
ХС ЛПВП	1,38±0,49	1,34±0,04	0,454	1,32±0,08	1,26±0,07	0,732	1,39±0,25	1,37±0,12	0,933
ХС ЛПНП	4,6±0,16	3,47±0,14	0,0001	4,07±0,24	3,66±0,26	0,025	4,55±0,58	3,58±0,25	0,018
ХС ЛПОНП	1,10±0,06	0,91±0,05	0,0001	1,25±0,10	1,03±0,09	0,0001	1,08±0,18	0,83±0,10	0,239
КА	4,53±0,25	3,51±0,17	0,0080	4,53±0,39	4,12±0,44	0,053	4,82±0,78	3,5±0,42	0,128

Примечание: p – достоверность.

Таблица 3

Степень изменения показателей липидного спектра крови у больных сахарным диабетом 2 типа - носителей различных генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 на фоне терапии аторвастатином

Параметр	Генотипы			p
	QQ (1)	QR (2)	RR (3)	
Общий холестерин, ммоль/л	1,46±0,16* (m=1,32) (n=93)	0,64±0,24 (m=0,80) (n=47)	1,63±0,36 (m=1,56) (n=10)	p _{1,2} =0,031 p _{1,3} =0,604 p _{2,3} =0,065
Триглицериды, ммоль/л	0,49±0,09 (m=0,50) (n=81)	0,61±0,17 (m=0,54) (n=42)	0,56±0,34 (m=0,19) (n=12)	p _{1,2} =0,794 p _{1,3} =0,510 p _{2,3} =0,473
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,008±0,06 (m=0,05) (n=48)	0,221±0,16 (m=0,08) (n=21)	0,12±0,25 (m=-0,020) (n=7)	p _{1,2} =0,681 p _{1,3} =0,733 p _{2,3} =0,710
ХС ЛПНП, ммоль/л	1,52±0,25 (m=1,12) (n=54)	1,51±0,30 (m=1,29) (n=31)	1,31±0,57 (m=1,25) (n=7)	p _{1,2} =0,635 p _{1,3} =0,803 p _{2,3} =0,638
ХС ЛПОНП, ммоль/л.	0,21±0,04 (m=0,22) (n=79)	0,24±0,07 (m=0,24) (n=39)	0,25±0,15 (m=0,08) (n=12)	p _{1,2} =0,870 p _{1,3} =0,526 p _{2,3} =0,564
Коэффициент атерогенности	0,91±0,30 (m=1,00) (n=47)	0,67±0,53 (m=1,03) (n=19)	1,27±0,73 (m=0,84) (n=7)	p _{1,2} =0,972 p _{1,3} =0,616 p _{2,3} =0,840

Примечание: * - в таблице приведены Δ - разница между исходными значениями показателя и на фоне лечения, p - достоверность, n - количество практически здоровых лиц, m - медиана.

рапии статинами отмечено более выраженное снижение уровня триглицеридов, чем у носителей QQ генотипа. Все вышеперечисленные исследования были проведены на когорте больных с гиперхолестеринемией. В данное исследование были включены пациенты с сахарным диабетом 2 типа, что может обуславливать отличие результатов от представленных в литературе.

ВЫВОДЫ

1. Распределение генотипов и встречаемость аллелей Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 у больных сахарным диабетом 2 типа и у практически здоровых лиц не различалось.

2. Показатели липидного спектра крови у больных сахарным диабетом 2 типа - носителей QQ, QR и RR генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 не отличались.

3. У больных сахарным диабетом 2 типа - носителей QQ генотипа Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 степень снижения общего холестерина была более значимой, чем у пациентов - носителей QR генотипа через 3 месяца лечения аторвастатином.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом». Вып. 7 // Сахарный диабет. — 2015. — Спец. вып. 1. — С. 1—112.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes // Diabetes Care. — 2015. — Vol. 38. — P. 1—93.
3. *Abdin A. A. et al.* Modulating effect of atorvastatin on paraoxonase 1 activity in type 2 diabetic Egyptian patients with or without nephropathy // J. Diabetes Complications. — 2010. — Vol. 24. — P. 325—333.
4. *Altuner D., Ates I., Suzen S. H. et al.* The relationship of PON1 QR 192 and LM 55 polymorphisms with serum paraoxonase

activities of Turkish diabetic patients // ToxicolInd Health. — 2011. — Vol. 27 (10). — P. 873—878.

5. *Christidis D. S., Liberopoulos E. N., Kakafika A. I. et al.* Effect of paraoxonase 1 polymorphisms on the response of lipids and lipoprotein-associated enzymes to treatment with fluvastatin // Arch. Med. Res. — 2007. — Vol. 38. — P. 403—410.

6. *Fu R., Sun Y., Su Y. et al.* Effect of statins therapy on plasma high-density lipoprotein-cholesterol levels is modified by paraoxonase 1 in Chinese patients with coronary heart disease // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. — 2008. — P. 982—983.

7. *Gokcen S., Cengiz M., Ozaydin A.* Serum Paraoxonase Levels and PON1(192) Polymorphism in Type 2 Diabetes Mellitus Patients // GMJ. — 2013. — Vol. 24. — P. 70—73.

8. *Mirdamadi H. Z., Sztanek F., Derdak Z. et al.* The human paraoxonase-1 phenotype modifies the effect of statins on paraoxonase activity and lipid parameters // Br. J. Clin. Pharmacol. — 2008. — Vol. 66. — P. 366—374.

9. *Turban S., Fuentes F., Ferlic L. et al.* A prospective study of paraoxonase gene Q/R192 polymorphism and severity, progression and regression of coronary atherosclerosis, plasma lipid levels, clinical events and response to fluvastatin // Atherosclerosis. — 2001. — Vol. 154. — P. 633—640.

РЕЗЮМЕ

М. В. Ким, С. А. Скорюкова, А. А. Быстрова, Е. И. Баранова, С. Н. Пчелина

Полиморфизм Q192R гена параоксоназы 1 и эффективность терапии аторвастатином у больных сахарным диабетом 2 типа

Цель исследования — оценить эффективность терапии аторвастатином у больных сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа) — носителей различных генотипов Q192R полиморфизма гена параоксоназы 1 (PON1). Обследовано 386 пациентов с СД 2 типа, не получавших ранее терапию статинами и 187 практически здоровых людей. Всем включенным в исследование выполнено анализ крови на липидный спектр и проведено молекулярно-генетическое обследование. В группу лечения аторвастатином вошли 164 пациента с СД 2 типа с дислипидемией. Показатели липидного спектра крови оценивались исходно и через 3 месяца терапии а-

торвастатином. У пациентов с СД 2 типа – носителей различных генотипов Q192R полиморфизма гена *PON1* показатели липидного спектра крови не различались. Терапия аторвастатином сопровождалась достоверным снижением уровней атерогенных липопротеинов у больных сахарным диабетом 2 типа – носителей различных генотипов Q192R полиморфизма гена *PON1*, но степень снижения общего холестерина у носителей генотипа Q192Q была больше, чем у носителей генотипа Q192R гена *PON1* ($p=0,031$). У носителей генотипа Q192Q гена *PON1* отмечено большее снижение уровня общего холестерина, чем у пациентов – носителей Q192R генотипа гена *PON1* через 3 месяца лечения аторвастатином.

Ключевые слова: сахарный диабет, дислипидемия, ген параоксоназы 1, аторвастатин.

SUMMARY

M. V. Kim, S. A. Skoryukova, A. A. Bystrova, E. I. Baranova, S. N. Pchelina

Q192R paraoxonase gene 1 (*PON1*) polymorphism and atorvastatin therapy effect in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM)

Study objective: to estimate efficiency of atorvastatin therapy in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), who are the carrier of various genotypes Q192R paraoxonase gene 1 (*PON1*). 386 T2DM patients, who have not received statin therapy before, and 187 healthy people were examined. All those examined were exposed to blood lipid profile testing and molecular genetic research. The atorvastatin treatment group included 164 T2DM patients with abnormality of lipids, their blood lipid profile values were assessed before and after 3 months of the therapy. Blood lipid profile values did not differ in type 2 diabetes mellitus patients (T2DM) – the carriers of different Q192R genotypes of paraoxonase gene 1 (*PON1*) polymorphism. Atorvastatin therapy decreased atherogenic lipoprotein levels in type 2 diabetes mellitus patients (T2DM) – the carriers of different Q192R genotypes of paraoxonase gene 1 (*PON1*) polymorphism, but reduction degree in the carriers of different Q192R genotypes differed – in Q192Q bearers it was greater than in the bearers of Q192R genotype of gene *PON1* ($p=0,031$). Atorvastatin 3-months therapy revealed greater reduction of total cholesterol in the carriers of Q192Q genotype of gene 1 (*PON1*) than in the carriers of Q192R genotype of gene 1 (*PON1*).

Key words: diabetes mellitus, dyslipidemia, paraoxonase 1 gene, atorvastatin.

Издательство СПбГМУ

имени академика И. П. Павлова

специализируется на издании медицинской, научной
и учебной литературы

Имея в своем составе квалифицированных художественных и научных редакторов, располагая современной полиграфической базой, издательство СПбГМУ может подготовить к печати и издать монографии, брошюры, медицинские журналы, буклеты и другую полиграфическую продукцию, подготовить оригинал-макет любой сложности.

Издательство СПбГМУ принимает заказы на публикацию рекламных объявлений в медицинских журналах и книгах, выпускаемых издательством.

Выпускаемая литература реализуется через магазин и киоск издательства.

Предварительную информацию об условиях оформления, выполнения
и оплаты заказов можно получить по адресу:

197089, Санкт-Петербург, улица Льва Толстого, 6/8

Издательство СПбГМУ имени академика И. П. Павлова