

Полиморфные варианты гена аполипопротеина E: связь с риском развития ишемической болезни сердца и эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином

Чурилин М. И.¹, Кононов С. И.¹, Лунева Ю. В.¹, Азарова Ю. Э.¹, Клёсова Е. Ю.¹, Харченко А. В.¹, Жабин С. Н.¹, Бушуева О. Ю.¹, Поветкин С. В.¹, Маль Г. С.¹, Солодилова М. А.¹, Полоников А. В.¹, Казанов В. А.²

¹ФГБОУ ВО “Курский государственный медицинский университет” Минздрава России. Курск;

²БМУ “Курская областная клиническая больница”. Курск, Россия

Цель. Провести анализ ассоциаций полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена аполипопротеина E (APOE) с риском развития ишемической болезни сердца (ИБС) и эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином.

Материал и методы. Образцы дезоксирибонуклеиновой кислоты и фенотипические данные 1700 неродственных индивидов славянского происхождения, уроженцев Центральной России. Фармакогенетическое исследование включало 205 пациентов, страдающих ИБС. Пациентам назначали розувастатин с определением уровней липидов и толщины комплекса интима-медиа (ТИМ) по прошествии 6 и 12 мес. наблюдения.

Результаты. Носители минорного аллеля T полиморфного варианта rs7412 гена APOE характеризовались более низким риском развитием ИБС и более высоким стартовым уровнем холестерина (ХС) липопротеинов низкой плотности (ЛНП). Ассоциации этого полиморфного варианта зависели от индекса массы тела. Ассоциация с повышенным риском развития ИБС была характерна для мужчин, носителей вариантного аллеля G полиморфного варианта rs4420638 гена APOE. При лечении розувастатином пациентов с ИБС, более выраженное гиполипидемическое действие в отношении общего ХС и ХС ЛНП было характерно для лиц, гомозиготных по минорному аллелю T полиморфного варианта rs7412 гена APOE по итогам 1 мес. терапии; ослабление гиполипидемического действия в отношении общего ХС имело место у носителей гетерозиготного генотипа A/G полиморфного варианта rs4420638 гена APOE по итогам 12 мес. терапии. Обнаружена связь полиморфного варианта rs7412 гена APOE с динамикой максимальной ТИМ у пациентов с ИБС при лечении розувастатином в виде отсутствия регресса ТИМ у носителей вариантного аллеля T по итогам 6 мес. гиполипидемической терапии.

Заключение. Полиморфные варианты гена APOE ассоциированы с показателями обмена ХС, риском развития ИБС и эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином.

Ключевые слова: аполипопротеин E, rs7412, rs4420638, ишемическая болезнь сердца, розувастатин.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 24/06-2019

Рецензия получена 17/09-2019

Принята к публикации 27/09-2019



Для цитирования: Чурилин М. И., Кононов С. И., Лунева Ю. В., Азарова Ю. Э., Клёсова Е. Ю., Харченко А. В., Жабин С. Н., Бушуева О. Ю., Поветкин С. В., Маль Г. С., Солодилова М. А., Полоников А. В., Казанов В. А. Полиморфные варианты гена аполипопротеина E: связь с риском развития ишемической болезни сердца и эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(1):2297. doi:10.15829/1728-8800-2020-1-2297

Статья была размещена в разделе “Принято в печать”: Чурилин М. И., Кононов С. И., Лунева Ю. В., Азарова Ю. Э., Клёсова Е. Ю., Харченко А. В., Жабин С. Н., Бушуева О. Ю., Поветкин С. В., Маль Г. С., Солодилова М. А., Полоников А. В., Казанов В. А. Полиморфные варианты гена аполипопротеина E: связь с риском развития ишемической болезни сердца и эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19: doi:10.15829/1728-8800-2020-1-2297

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: mpmi2@yandex.ru

Тел.: +7 (951) 087-02-78

[Чурилин М. И.* — ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ORCID: 0000-0002-6064-986X, Кононов С. И. — ассистент кафедры фармакологии, ORCID: 0000-0002-7622-7354, Лунева Ю. В. — доцент кафедры клинической фармакологии, ORCID: 0000-0002-1291-1819, Азарова Ю. Э. — доцент кафедры биологической химии, зав. лабораторией биохимической генетики и метаболизма НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ORCID: 0000-0001-8098-8052, Клёсова Е. Ю. — инженер-биотехнолог лаборатории биохимической генетики и метаболизма НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ORCID: 0000-0002-1543-9230, Харченко А. В. — доцент кафедры внутренних болезней № 2, ORCID: 0000-0001-8636-3096, Жабин С. Н. — доцент кафедры хирургических болезней № 1, ORCID: 0000-0002-9324-0972, Бушуева О. Ю. — доцент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, ORCID: 0000-0003-3333-0623, Поветкин С. В. — зав. кафедрой клинической фармакологии, ORCID: 0000-0002-1302-9326, Маль Г. С. — зав. кафедрой фармакологии, ORCID: 0000-0003-2723-781X, Солодилова М. А. — профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, ORCID: 0000-0003-4607-4913, Полоников А. В. — руководитель НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, зав. кафедрой биологии, медицинской генетики и экологии, ORCID: 0000-0001-6280-247X, Казанов В. А. — сердечно-сосудистый хирург, ORCID: 0000-0003-4698-5880].

Apolipoprotein E gene polymorphisms: a relationship with the risk of coronary artery disease and the effectiveness of lipid-lowering therapy with rosuvastatin

Churilin M. I.¹, Kononov S. I.¹, Luneva Yu. V.¹, Azarova Yu. E.¹, Klyosova E. Yu.¹, Harchenko A. V.¹, Zhabin S. N.¹, Bushueva O. Yu.¹, Povetkin S. V.¹, Mal G. S.¹, Solodilova M. A.¹, Polonikov A. V.¹, Kazanov V. A.²

¹Kursk State Medical University, Kursk; ²Kursk Regional Clinical Hospital, Kursk, Russia

Aim. To analyze the associations of apolipoprotein E (*APOE*) gene polymorphisms (rs7412 and rs4420638) with the risk of coronary artery disease (CAD) and the effectiveness of lipid-lowering therapy with rosuvastatin.

Material and methods. The study involved the analysis of deoxyribonucleic acid samples and phenotypic data of 1700 unrelated individuals of Slavic origin, natives of Central Russia. A pharmacogenetic testing included 205 patients with CAD. Patients were prescribed rosuvastatin with determination of lipid levels and intima-media thickness (IMT) after 6 and 12 months of follow-up.

Results. Carriers of the minor T allele for rs7412 polymorphism of the *APOE* gene were characterized by a lower CAD risk and a higher baseline level of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C). Associations of this polymorphism depended on body mass index. An association with an increased CAD risk was typical for male carriers of the variant G allele for rs4420638 polymorphism of the *APOE* gene. When treating CAD patients with rosuvastatin, a more pronounced lipid-lowering effect on total cholesterol and LDL-C was characteristic of individuals homozygous for the minor T allele for rs7412 of the *APOE* gene after 1 month of therapy; decrease of the lipid-lowering effect with respect to total cholesterol took place in carriers of the heterozygous A/G genotype of rs4420638 polymorphism of the *APOE* gene after 12 months of therapy. An association was found between the rs7412 polymorphism of the *APOE* gene and the changes of maximum IMT in CAD patients treated with rosuvastatin. It consisted of the absence of IMT regression in T allele carriers after 6 months of lipid-lowering therapy.

Conclusion. Polymorphisms of the *APOE* gene are associated with parameters of cholesterol metabolism, the risk of CAD and the effectiveness of lipid-lowering therapy with rosuvastatin.

Key words: apolipoprotein E, rs7412, rs4420638, coronary artery disease, rosuvastatin.

Relationships and Activities: not.

Churilin M. I.* ORCID: 0000-0002-6064-986X, Kononov S. I. ORCID: 0000-0002-7622-7354, Luneva Yu. V. ORCID: 0000-0002-1291-1819, Azarova Yu. E. ORCID: 0000-0001-8098-8052, Klesova E. Yu. ORCID: 0000-0002-1543-9230, Kharchenko A. V. ORCID: 0000-0001-8636-3096, Zhabin S. N. ORCID: 0000-0002-9324-0972, Bushueva O. Yu. ORCID: 0000-0003-3333-0623, Povetkin S. V. ORCID: 0000-0002-1302-9326, Mal G. S. ORCID: 0000-0003-2723-781X, Solodilova M. A. ORCID: 0000-0003-4607-4913, Polonikov A. V. ORCID: 0000-0001-6280-247X, Kazanov V. A. ORCID: 0000-0003-4698-5880.

*Corresponding author: mpmi2@yandex.ru

Received: 24/06-2019

Revision Received: 17/09-2019

Accepted: 27/09-2019

For citation: Churilin M. I., Kononov S. I., Luneva Yu. V., Azarova Yu. E., Klesova E. Yu., Kharchenko A. V., Zhabin S. N., Bushueva O. Yu., Povetkin S. V., Mal G. S., Solodilova M. A., Polonikov A. V., Kazanov V. A. Apolipoprotein E gene polymorphisms: a relationship with the risk of coronary artery disease and the effectiveness of lipid-lowering therapy with rosuvastatin. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(1):2297. doi:10.15829/1728-8800-2020-1-2297. (In Russ.)

Ahead of print: Churilin M. I., Kononov S. I., Luneva Yu. V., Azarova Yu. E., Klesova E. Yu., Kharchenko A. V., Zhabin S. N., Bushueva O. Yu., Povetkin S. V., Mal G. S., Solodilova M. A., Polonikov A. V., Kazanov V. A. Polymorphic variants of the apolipoprotein e gene: the relationship with the risk of coronary heart disease and the effectiveness of lipid-lowering therapy with rosuvastatin. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19: doi:10.15829/1728-8800-2020-1-2297. (In Russ.)

ДЛП — дислипотеинемия, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМТ — индекс массы тела, ЛВП — липопротеины высокой плотности, ЛНП — липопротеины низкой плотности, ЛОНП — липопротеины очень низкой плотности, ОСА — общая сонная артерия, ОХС — общий холестерин, ТГ — триглицериды, ТИМ — толщина интима-медиа, ФР — факторы риска, ХС — холестерин, ЦР — Центральная Россия, АРОЕ — аполипопротеин Е (аполипопротеин Е — apoE), АПОЕ — ген, кодирующий apoE, SNP — single nucleotide polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм), SREBP — белки, связывающие регуляторные элементы стерола.

Введение

Хорошо известно, что генетические факторы вносят ощутимый вклад в формирование атеросклероза, в т. ч. и коронарного. Показано, что в значительной степени развитие ишемической болезни сердца (ИБС) обусловлено совокупным эффектом множества различных генов. К настоящему времени установлено порядка 65 полиморфных вариантов генов-кандидатов, ассоциированных с риском развития ИБС [1]. Одним из таких генов является аполипопротеин Е (АРОЕ). Мутации гена *APOE* приводят к семейной дислипотеинемии (ДЛП), известной как гиперлипотеинемия III типа, при которой повышенный уровень свободного холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) в плазме является следствием нарушения метаболизма липопротеидов

очень низкой плотности (ЛОНП) и низкой плотности (ЛНП) [2]. АРОЕ представляет собой белок, состоящий из 299 аминокислот, организованных в домены амфипатических α -спиралей, и функционирует как транспортер ХС и липидов в лимфатическую систему, а затем в кровь. Наиболее высокий уровень синтеза АРОЕ обнаружен в печени, до 75% суммарной продукции, а также в селезенке и почках [3], кроме того, нелокальными продуцентами являются моноциты в крови и макрофаги печени (клетки Купфера). Кроме участия в регуляции липидного обмена АРОЕ способен модулировать воспаление, и связан с формированием окислительного стресса [4, 5]. Ген *APOE* картирован на хромосоме 19 в кластере вместе с аполипопротеинами С1 и С2. Он состоит из четырех экзонов и трех интронов.

Существует три относительно распространенных полиморфных варианта (SNP) гена *APOE*: rs429358 и rs7412, известных как *APOE-ε2* (cys112, cys158), *APOE-ε3* (cys112, arg158) и *APOE-ε4* (arg112, arg158). Белки, кодируемые этими генами — соответственно, *APOE2*, *APOE3* и *APOE4* различаются одной аминокислотной заменой в С-концевом домене, содержащем три α-спирали, конформационно образующих сайт связывания рецептора ЛНП. Варианты белка *APOE2* и *APOE4* не обеспечивают эффективной аффинности ЛНП, что сильно ограничивает захват и печеночный метаболизм ЛНП, чем обеспечивается высокая концентрация соответствующих липопротеинов в плазме крови. Именно этим продиктована связь этих вариантов с риском развития атеросклероза сосудов. Вариант аллеля *APOE3* принято считать “нейтральным” генотипом по риску развития атеросклероза.

В мета-анализе [6] пришли к заключению, что аллель ε2 гена *APOE* может выступать в качестве фактора риска (ФР) для преждевременной ИБС у азиатов, но в качестве защитного фактора у европейцев, и что аллель ε4 действует как генетический ФР для преждевременной ИБС. По данным мета-анализа [7] полиморфизм rs7412 играет значимую роль в развитии ИБС у европейцев. Мета-анализ [8] показывал, что данный полиморфизм *APOE* не связан с восприимчивостью к атеросклерозу. Несогласованность полученных результатов диктует необходимость дальнейших исследований в других популяциях мира.

Целью настоящего исследования было изучение ассоциации двух частых полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* с риском развития ИБС и эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином у жителей Центральной России (ЦР).

Материал и методы

С целью анализа ассоциаций полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* с риском развития ИБС использовались образцы дезоксирибонуклеиновой кислоты и фенотипические данные 1700 неродственных индивидов славянского происхождения, уроженцев ЦР. Фармакогенетическое исследование проводилось с включением 205 пациентов, страдающих ИБС, стабильной стенокардией напряжения II-III функциональных классов (согласно классификации Канадского сердечно-сосудистого общества) с наличием ДЛП: уровнем общего холестерина (ОХС) >4,0 ммоль/л, ХС ЛНП >1,8 ммоль/л, при отсутствии противопоказаний к терапии статинами и наличии информированного согласия на проведение исследования. Дизайн исследования был одобрен региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете, и заключался в стартовом назначении розувастатина в минимальной дозе 5 мг/сут. с контролем параметров липидов плазмы через 1 мес. терапии. Целью назначения препарата было достижение пациентами параметров липидного обмена, рекомендованных Российскими рекомендациями по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена V

пересмотра. При достижении этих параметров, пациенты продолжали прием препарата в прежней дозе, при отсутствии успеха доза повышалась последовательно до 10-20-40 мг/сут. с контролем липидов плазмы 1 раз в 4 мес. до окончания титрации дозы, а затем уровни липидов определялись по прошествии 6 и 12 мес. наблюдения.

Толщина комплекса интима-медиа (ТИМ) определялась ультразвуковым методом с помощью системы MyLab™40 (“Esaote”, Голландия) в В-режиме линейным датчиком ультравысокого разрешения. Измерение ТИМ выполнялось в автоматическом режиме с обеих сторон в продольном сечении в дистальной трети общей сонной артерии (ОСА) на расстоянии 1-1,5 см проксимальнее бифуркации по задней стенке [9]. При анализе данных использовались параметры: ТИМ средняя — полусумма ТИМ правой и левой ОСА, ТИМ максимальная — максимальный результат из ТИМ правой и левой; данные показатели оценивались на старте исследования, а также по прошествии 6 и 12 мес. наблюдения.

Результаты

Частоты генотипов полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* тестировались на соответствие равновесию Харди-Вайнберга, отклонение от которого было выявлено для варианта rs7412 ($p=0,00018$), частоты генотипов второго исследованного варианта соответствовали равновесию Харди-Вайнберга ($p=0,13$).

Анализировалась связь носительства полиморфных вариантов гена *APOE* с ИБС среди жителей ЦР. Результаты анализа представлены в таблице 1. Носительство генотипов С/Т и Т/Т rs7412 было ассоциировано с более низким риском ИБС по сравнению с лицами, гомозиготными по аллелю С “дикого типа”. Носительство же вариантного аллеля второго из исследованных SNPs в противоположность первому было ассоциировано с увеличением риска ИБС.

Проводился анализ ассоциаций генотипов полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* отдельно среди лиц мужского и женского пола. Результаты, полученные на общей выборке, остались справедливыми в отношении мужчин. В отношении женщин вариант rs7412 не продемонстрировал ассоциаций в связи с отсутствием носителей минорного аллеля среди женщин, не страдавших ИБС. Полиморфный вариант rs4420638 гена *APOE* среди женщин не был ассоциирован с ИБС.

Все обнаруженные ассоциации не теряли статистической значимости при внесении поправки на пол (для общей выборки), возраст и курение, однако при добавлении индекса массы тела (ИМТ) в качестве поправки к вышеуказанным факторам, ассоциации риска ИБС и генотипа по полиморфному варианту rs7412 теряла свою статистическую значимость. При анализе влияния этого фактора, снижение риска ИБС имело место только среди пациентов с нормальной массой тела.

Таблица 1

Частоты генотипов полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* у пациентов (включая мужчин и женщин), страдающих ИБС и здоровых жителей ЦР

Ген (SNP)	Генотип, аллель	Здоровые, n (%) ¹	Больные, n (%) ¹	OR (95% CI) ²	p ³	
<i>APOE</i> rs7412	C/C	80 (74,1%)	472 (84,4%)	1,00	0,013	
	C/T	25 (23,1%)	74 (13,2%)	0,51 (0,30-0,87)		
	T/T	3 (2,8%)	13 (2,3%)	0,54 (0,14-2,09)		
	Мужчины					
	C/C	74 (72,5%)	339 (84,5%)	1,00	0,0052	
	C/T	25 (24,5%)	55 (13,7%)	0,47 (0,27-0,81)		
	T/T	3 (2,9%)	7 (1,8%)	0,45 (0,11-1,86)		
	Женщины					
	C/C	6 (100%)	133 (84,2%)	1,00	0,3	
C/T	0 (0%)	19 (12%)	-			
T/T	0 (0%)	6 (3,8%)	-			
<i>APOE</i> rs4420638	A/A	489 (74,1%)	682 (69,0%)	1,00	0,027	
	G/A	161 (24,4%)	285 (28,9%)	1,27 (1,01-1,59)		
	G/G	10 (1,5%)	21 (2,1%)	1,45 (0,68-3,11)		
	Мужчины					
	A/A	320 (74,2%)	430 (68,2%)	1,00	0,019	
	G/A	103 (23,9%)	189 (29,9%)	1,40 (1,05-1,87)		
	G/G	8 (1,9%)	12 (1,9%)	1,06 (0,42-2,66)		
	Женщины					
	A/A	169 (73,8%)	252 (70,6%)	1,00	0,35	
	G/A	58 (25,3%)	96 (26,9%)	0,98 (0,63-1,50)		
	G/G	2 (0,9%)	9 (2,5%)	2,09 (0,40-11,04)		

Примечание: ¹ — абсолютное число и % пациентов с представленными генотипами, ² — отношение шансов (95% доверительный интервал) с поправкой на пол, возраст, курение табака, ³ — уровень статистической значимости ассоциации по данным логистического регрессионного анализа.

Оценивалось наличие ассоциаций между изучаемыми SNPs в гене *APOE* и уровнями липидов плазмы крови. Ассоциации с уровнем ОХС обнаружено не было, в т.ч. при внесении поправки на ФР — пол, возраст, ИМТ, курение ($p=0,54$ и $0,14$ для ассоциаций с rs7412 и rs4420638, соответственно). Связь между носительством вышеуказанных полиморфных вариантов и уровнем ХС ЛНП не достигла статистической значимости до внесения поправки на ФР ($p=0,15$ и $0,7$ для ассоциаций с rs7412 и rs4420638, соответственно), но стала значимой после поправки для rs7412 ($p=0,013$). У носителей вариантного аллеля Т уровень ХС ЛНП был выше (для лиц с генотипом С/Т $2,67$ ($1,80-4,38$) ммоль/л, с генотипом Т/Т $2,55$ ($1,51-4,61$)), чем у гомозигот по аллелю “дикого” типа С ($2,20$ ($1,48-3,92$) ммоль/л). Ключевым фактором, повлиявшим на данную ассоциацию генотипа и уровня ХС ЛНП, явился ИМТ, эффект генотипа имел место у пациентов с нормальной массой тела. Не было обнаружено связи исследованных полиморфных вариантов с уровнями ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП) ($p=0,58$ и $0,41$, соответственно, для первого и второго вариантов) и ТГ ($p=0,074$ и $0,064$, соответственно, для rs7412 и rs4420638) как без поправки, так и с поправкой на ФР.

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* с ТИМ ОСА таковых не обнаружил ($p=0,39$ и $0,66$, соответственно, для rs7412 и rs4420638).

Ассоциации полиморфных вариантов гена *APOE* с параметрами липидного обмена в динамике. Проводился анализ ассоциаций полиморфизмов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* с динамикой ОХС, ХС ЛНП, ХС ЛВП и ТГ, выраженной в процентах от исходного уровня, по итогам 1, 6 и 12 мес. терапии розувастатином. Результаты анализа ассоциаций полиморфных вариантов с динамикой ОХС представлены в таблице 2.

Ассоциация с гиполипидемическим действием розувастатина была обнаружена для обоих полиморфных вариантов: для rs7412 по итогам 1 мес. терапии в виде более выраженного снижения уровня ОХС у гомозигот по аллельному варианту Т (таблица 2); для полиморфизма rs4420638 — по прошествии 12 мес. наблюдения в виде ослабленного гиполипидемического эффекта препарата у гетерозигот А/Г.

При оценке связи полиморфных вариантов гена *APOE* с динамикой изменения уровня ХС ЛНП, ассоциация имела место только в отношении rs7412 по итогам 1 мес. терапии в виде более выраженного

Таблица 2

Связь полиморфных вариантов гена *APOE* с динамикой изменения уровня ОХС и ХС ЛНП плазмы крови у пациентов с ИБС под влиянием гиполипидемической терапии розувастатином

Ген (SNP)	Генотип	Частоты генотипов		Стартовый уровень, Ме (Q1-Q3)	1 мес. терапии		p*	6 мес. терапии		p*	12 мес. терапии		p*
		n	%		Абсолютное значение, Ме (Q1-Q3)	Δ%, М (m)		Абсолютное значение, Ме (Q1-Q3)	Δ%, М (m)		Абсолютное значение, Ме (Q1-Q3)	Δ%, М (m)	
ОХС													
<i>APOE</i> rs7412	C/C	120	83,3	5,9 (5,65-6,31)	4,84 (3,98-5,58)	-18,06 (1,05)	0,014	3,69 (3,35-3,90)	-36,15 (0,92)	0,12	3,57 (3,28-3,8)	-38,33 (0,91)	0,07
	C/T	21	14,6	6,1 (5,7-6,4)	5,05 (4,03-5,26)	-21,2 (2,35)		3,55 (3,31-3,72)	-37,11 (2,1)		3,56 (3,34-3,7)	-38,16 (1,91)	
	T/T	3	2,1	6,52 (5,15-7,6)	3,61 (3,23-4,6)	-39,95 (5,94)		3,3 (3,21-3,66)	-46,18 (5,14)		3,27 (3,11-3,42)	-47,71 (6,52)	
<i>APOE</i> rs4420638	A/A	149	72,7	5,9 (5,2-6,3)	4,2 (3,65-5,23)	-24,08 (1,18)	0,24	3,56 (3,2-3,85)	-37,43 (0,86)	0,096	3,5 (3,23-3,71)	-38,61 (0,8)	0,028
	A/G	53	25,8	5,88 (5,09-6,3)	4,33 (3,67-5,38)	-20,15 (1,46)		3,69 (3,3-3,82)	-34,19 (1,37)		3,6 (3,2-3,78)	-34,79 (1,49)	
	G/G	3	1,5	6,1 (5,8-7,4)	5,3 (4,00-6,05)	-20,8 (5,33)		3,55 (3,43-3,59)	-44,72 (3,4)		3,4 (3,34-3,56)	-46,17 (3,07)	
ХС ЛНП													
<i>APOE</i> rs7412	C/C	120	83,3	4,01 (3,2-4,47)	2,79 (2,17-3,45)	-27,97 (1,56)	0,026	1,72 (1,48-1,83)	-54,07 (1,16)	0,089	1,65 (1,48-1,76)	-56,02 (1,22)	0,081
	C/T	21	14,6	4,29 (4,08-4,58)	2,95 (2,19-3,39)	-30,79 (3,25)		1,75 (1,64-1,83)	-53,22 (3,5)		1,64 (1,41-1,77)	-57,03 (2,74)	
	T/T	3	2,1	4,61 (2,99-5,63)	1,96 (1,57-2,00)	-54,96 (10,26)		1,54 (1,3-1,59)	-64,96 (4,47)		1,46 (1,45-1,69)	-62,92 (6,66)	
<i>APOE</i> rs4420638	A/A	149	72,7	3,93 (3,2-4,43)	2,3 (1,8-3,22)	-34,65 (1,58)	0,3	1,7 (1,41-1,8)	-54,11 (1,12)	0,21	1,66 (1,45-1,75)	-55,35 (1,11)	0,068
	A/G	53	25,8	4,07 (2,78-4,36)	2,36 (1,79-3,20)	-30,33 (2,22)		1,68 (1,58-1,85)	-51,64 (1,56)		1,65 (1,46-1,78)	-52,25 (1,72)	
	G/G	3	1,5	4,1 (3,87-5,55)	3,55 (1,84-4,18)	-30,18 (11,6)		1,53 (1,2-2,04)	-63,89 (6,89)		1,41 (1,16-1,48)	-69,51 (3,1)	

Примечание: * — уровень значимости с поправкой на пол, возраст, ИМТ, дозу розувастатина.

снижения уровня ХС ЛНП у гомозигот по аллельному варианту Т, в других контрольных точках эффект препарата не показал связи с генотипом. Связи между генотипом rs4420638 и динамикой ХС ЛНП обнаружено не было (таблица 2).

После оценки возможных ассоциаций генотипа по полиморфным вариантам *APOE*, исследовалось наличие таковых с другими фракциями липидов: ХС ЛВП и ТГ. По результатам исследования статистически значимой связи между полиморфными вариантами rs7412 и rs4420638 гена *APOE* и динамикой указанных фракций липидов плазмы у пациентов с ИБС при лечении розувастатином обнаружено не было. Уровни значимости связи rs7412 с динамикой изменения ХС ЛВП составили 0,3, 0,5 и 0,23, соответственно, по итогам 1, 6 и 12 мес. терапии, с динамикой ТГ — 0,32, 0,77 и 0,56. Уровни значимости ассоциации rs4420638 с динамикой изменения ХС ЛВП составили 0,74, 0,32 и 0,57, соответственно, по итогам 1, 6 и 12 мес. терапии, с динамикой ТГ — 0,12, 0,15 и 0,33.

Ассоциации полиморфных вариантов гена *APOE* с ТИМ ОСА в динамике. Оценивалось наличие связи между носительством полиморфных вариантов rs7412 и rs4420638 гена *APOE* и динамикой изменения ТИМ ОСА (средней и максимальной) у пациентов с ИБС при лечении розувастатином по итогам 1, 6 и 12 мес. терапии. Динамика ТИМ ОСА оценивалась в процентах от исходного уровня.

Результаты анализа ассоциаций генотипа с динамикой максимальной ТИМ представлены в таблице 2. Статистически значимая ассоциация была характерна для полиморфного варианта rs7412 в связи с динамикой изменения максимальной ТИМ, так, носители минорного аллеля Т (гетерозиготы С/Т и гомозиготы по вариантному аллелю Т/Т, аддитивная модель) характеризовались нарастанием ТИМ в противоположность её регрессу у носителей генотипа С/С (гомозиготы по аллелю “дикого” типа) по итогам только 6 мес. терапии. Связи такого варианта с динамикой максимальной ТИМ на других точках исследования не обнару-

жено. Полиморфные варианты также не продемонстрировали ассоциаций со средней ТИМ ($p=0,13$ и $0,12$ для ассоциации rs7412, соответственно, по итогам 6 и 12 мес. терапии, $p=0,76$ и $0,81$ для ассоциации rs4420638). Вариант rs4420638 не был ассоциирован ни с одним показателем ТИМ в динамике, но стоит принять во внимание отсутствие гомозигот по минорному аллелю в выборке пациентов, у которых определялась динамика изменения ТИМ.

Проводился анализ связи полиморфных вариантов гена *APOE* с динамикой изменения максимальной ТИМ ОСА у пациентов с ИБС под влиянием гиполипидемической терапии розувастатином на сроках 6 и 12 мес. Для генотипов С/С, С/Т и Т/Т варианта rs7412 изменения ТИМ составили $-14,25$ (2,95), $1,36$ (6,11) и $8,33$ (20,83), соответственно, (уровень статистической значимости с поправкой на пол, возраст, ИМТ и дозу розувастатина $p=0,011$) к 6 мес. гиполипидемической терапии, и $-11,44$ (4,09), $-27,01$ (14,2) и $-16,67$ (11,02) к 12 мес., соответственно ($p=0,12$). Для генотипов А/А и А/Г rs4420638 (носители генотипа G/G в исследовании не участвовали) установлена динамика изменения ТИМ: $-9,83$ (2,39) и $-7,08$ (6,98), соответственно, к 6 мес. терапии ($p=0,75$) и $-14,45$ (2,6), $-18,00$ (6,41) ($p=0,47$) к 12 мес.

Обсуждение

Аполипопротеин Е (апоЕ) представляет собой гликопротеин, являющийся компонентом хиломикронов, а также таких частиц, как ЛОНП, ЛНП и ЛВП и выполняет функцию лиганда для рецептора к ЛНП [10]. Ген, кодирующий апоЕ (*APOE*), характеризуется значительным полиморфизмом, и широко известным его вариантом является rs7412, носительство которого приводит к образованию в организме апоЕ со сниженным аффинитетом к ЛНП-рецептору, что приводит к ослаблению захвата гепатоцитами частиц, богатых ТГ. Указанные изменения активируют компенсаторный механизм, заключающийся в повышении экспрессии ЛНП-рецепторов, что ведет к усилению захвата ЛНП и снижению их концентрации в крови. Риск развития ИБС, таким образом, у носителей вариантного аллеля снижен по вышеописанному механизму [11], что согласуется с результатами настоящего исследования. Выявлено влияние ИМТ обследуемых на ассоциацию генотипа по варианту rs7412 гена *APOE* и риском развития ИБС — у носителей минорного аллеля риск снижался при условии нормальной массы тела. Такое влияние ИМТ имело место и в отношении ассоциации генотипа со стартовым уровнем ХС ЛНП. Связь носительства гаплотипа $\epsilon 2$ (который определяется носительством минорного аллеля rs7412 и аллеля “дикого” типа варианта rs429358 того же гена) у пациентов с сосудистыми заболеваниями атеросклеротического

генеза с уровнем ХС, не связанного с ЛВП, в зависимости от наличия ожирения и метаболического синдрома также имела место в исследовании [12]. Авторы объясняют влияние ИМТ на уровень вышеуказанных липидов именно у носителей изоформы $\epsilon 2$ тем, что при отсутствии ожирения лица-носители данной изоформы имеют нормальные или даже сниженные уровни липидов плазмы крови вследствие повышения экспрессии ЛНП-рецепторов, а в условиях ожирения печень получает большее количество свободных жирных кислот и продуцирует большее количество ЛОНП. Таким образом, активация механизма повышения экспрессии ЛНП-рецептора в последнем случае не компенсирует ДЛП [12].

Полиморфный вариант гена *APOE* rs4420638, также изученный в настоящем исследовании, расположен в области дезоксирибонуклеиновой кислоты рядом с геном *APOC1*, ассоциирован с уровнем ХС ЛНП в виде более высокого уровня данной фракции у носителей вариантного аллеля G, и одновременно с риском развития ИБС [13]. Данная ассоциация с риском развития ИБС подтверждена в настоящем исследовании, кроме того, были выявлены половые различия во влиянии этого полиморфного варианта — риск ИБС повышался только у мужчин-носителей минорного аллеля. Ассоциации со стартовыми уровнями липидов в настоящем исследовании получены не были, однако данный вариант имел связь с гиполипидемическим действием розувастатина в отношении ОХС. Носители гетерозиготного генотипа характеризовались ослабленным снижением уровня ОХС. Согласно литературе, полиморфный вариант rs4420638 оказывал влияние на гиполипидемический эффект розувастатина в отношении ХС ЛНП с его ослаблением у носителей аллельного варианта G [14]. Влияние варианта rs7412 на гиполипидемическое действие розувастатина, а также и статинов предыдущих поколений, достаточно широко изучено. Носители аллельного варианта T характеризуются более выраженным подавлением синтеза ХС при использовании статинов, что, в свою очередь, активирует SREBP (белки, связывающие регуляторные элементы стерола)-сигнальный путь и активность ЛНП-рецептора. Такая особенность находит свое подтверждение и в настоящем исследовании в виде усиленного снижения ОХС и ХС ЛНП при лечении розувастатином у носителей минорного аллеля этого полиморфизма.

Определение ТИМ ОСА имеет высокую прогностическую ценность в диагностике атеросклероза коронарных артерий. Ассоциации полиморфных вариантов гена *APOE* со стартовой ТИМ обнаружены не были, хотя, в литературе сообщалось об ассоциации гаплотипа $\epsilon 2$ с меньшей ТИМ

по сравнению с носителями гаплотипов $\epsilon 3$ и $\epsilon 4$ [15]. Динамика ТИМ у пациентов с ИБС при лечении розувастатином в зависимости от носительства полиморфных вариантов гена *APOE* с учетом данных литературы ранее не изучалась. В настоящем исследовании ассоциацию с изменением ТИМ продемонстрировал только полиморфный вариант rs7412 по итогам 6 мес. терапии в виде ослабленного ответа на действие розувастатина — у носителей вариантного аллеля ТИМ не уменьшалась, по итогам более длительного наблюдения, равного 12 мес., статистически значимого влияния генотипа не обнаружено. Исходя из вышеизложенного, настоящее исследование является результатом использования интегрированного подхода к анализу влияния генетических факторов на риск развития ИБС и его патогенетически значимых промежуточных фенотипов (показатели липидного спектра крови и ТИМ), а также фармакогенетическая оценка эффективности гиполипидемической терапии розувастатином.

Заключение

Носители минорного аллеля Т полиморфного варианта rs7412 гена *APOE* характеризовались более низким риском развития ИБС и более высоким

стартовым уровнем ХС ЛНП. Ассоциации данного полиморфного варианта зависели от ИМТ.

Ассоциация с повышенным риском развития ИБС была характерна для мужчин, носителей вариантного аллеля G полиморфного варианта rs4420638 гена *APOE*.

При лечении розувастатином пациентов с ИБС, более выраженное гиполипидемическое действие в отношении ОХС и ХС ЛНП было характерно для лиц, гомозиготных по минорному аллелю Т полиморфного варианта rs7412 гена *APOE* по итогам 1 мес. терапии; ослабление гиполипидемического действия в отношении ОХС имело место у носителей гетерозиготного генотипа A/G полиморфного варианта rs4420638 гена *APOE* по итогам 12 мес. терапии.

Обнаружена связь полиморфного варианта rs7412 гена *APOE* с динамикой максимальной ТИМ у пациентов с ИБС при лечении розувастатином в виде отсутствия регресса ТИМ у носителей вариантного аллеля Т по итогам 6 мес. гиполипидемической терапии.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Webb TR, Erdmann J, Stirrups KE, et al. Wellcome Trust Case Control Consortium; MORGM Investigators; Myocardial Infarction Genetics and CARDIoGRAM Exome Consortia Investigators. Systematic Evaluation of Pleiotropy Identifies 6 Further Loci Associated With Coronary Artery Disease. *JACC*. 2017;69:823-36. doi:10.1016/j.jacc.2016.11.056.
- Sacks FM. The crucial roles of apolipoproteins E and C-III in apoB lipoprotein metabolism in normolipidemia and hypertriglyceridemia. *Curr Opin Lipidol*. 2015;26(1):56-63. doi:10.1097/MOL.0000000000000146.
- Mahley RW, Rall SC Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2000;1:507-37. doi:10.1146/annurev.genom.1.1.507.
- Orekhov A, Novikov, N, Oishi Y, et al. Transcriptome analysis revealed inflammatory genes responsible for foam cell formation. *Atherosclerosis*. 2018;275:e116. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.329.
- Braesch-Andersen S, Paulie S, Smedman C, et al. ApoE production in human monocytes and its regulation by inflammatory cytokines. *PLoS One*. 2013;8(11):e79908. doi:10.1371/journal.pone.0079908.
- Zhao QR, Lei YY, Li J, et al. Association between apolipoprotein E polymorphisms and premature coronary artery disease: a meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017;55(2):284-98. doi:10.1515/cclm-2016-0145.
- Varga TV, Kurbasic A, Aine M, et al. Novel genetic loci associated with long-term deterioration in blood lipid concentrations and coronary artery disease in European adults. *International journal of epidemiology*. 2016;46(4):1211-22. doi:10.1093/ije/dyw245.
- Zhu H, Xue H, Wang H, et al. The association of apolipoprotein E (APOE) gene polymorphisms with atherosclerosis susceptibility: a meta-analysis. *Minerva Cardioangiologica*. 2016;64(1):47-54. doi:10.1093/gerona/61.9.918.
- Balakhonova TV, Tripoten' MI, Pogorelova OA. Ultrasonic methods for assessing the thickness of the intima-media complex of the arterial wall. *SonoAce-Ultrasound*. 2010;21:57-63. (In Russ.) Балахонова Т.В., Трипотень М.И., Погорелова О.А. Ультразвуковые методы оценки толщины комплекса интима-медиа артериальной стенки. *SonoAce-Ultrasound*. 2010;21:57-63.
- Alfonsi JE, Hegele RA, Gryn SE. Pharmacogenetics of Lipid-Lowering Agents: Precision or Indecision Medicine? *Curr Atheroscler Rep*. 2016;18(5):24. doi:10.1007/s11883-016-0573-6.
- Dergunov AD. Apolipoprotein E genotype as a most significant predictor of lipid response at lipid-lowering therapy: mechanistic and clinical studies. *Biomed. Pharmacother*. 2011;65(8):597-603. doi:10.1016/j.biopha.2011.04.003.
- Koopal C, van der Graaf Y, Asselbergs FW, et al. Influence of APOE-2 genotype on the relation between adiposity and plasma lipid levels in patients with vascular disease. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(2):265-9. doi:10.1038/ijo.2014.105.
- Bertram L, McQueen MB, Mullin K, et al. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet*. 2007;39(1):17-23. doi:10.1038/nq1934.
- Hu M, Lui SS, Mak VW, et al. Pharmacogenetic analysis of lipid responses to rosuvastatin in Chinese patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2010;20(10):634-7. doi:10.1097/FPC.0b013e32833de489.
- Paternoster L, Martínez González NA, Lewis S, et al. Association between apolipoprotein E genotype and carotid intima-media thickness may suggest a specific effect on large artery atherothrombotic stroke. *Stroke*. 2008;39(1):48-54. doi:10.1161/STROKEAHA.107.488866.