

УДК 616.127-005.4-085

**ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПОВ БЕЛКА-ПЕРЕНОСЧИКА  
ЭФИРОВ ХОЛЕСТЕРИНА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ  
ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РОЗУВАСТАТИНОМ  
У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА  
С АТЕРОГЕННЫМИ ГИПЕРЛИПИДЕМИЯМИ**

**Звягина М.В., Маль Г.С., Бушуева О.Ю., Быканова М.А., Летова И.М.,  
Грибовская И.А., Солодилова М.А., Полоников А.В.**  
*ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,  
Курск, e-mail: mgalina@mail.ru*

В статье рассматриваются аспекты влияния полиморфизма гена белка-переносчика эфиров холестерина на эффективность гиполипидемической терапии. Крупномасштабные геномные исследования обнаружили более значимую корреляцию между полиморфизмами гена *СЕТР* и концентрацией ХС ЛВП, чем среди других локусов. Выделение геномной ДНК осуществлялось из венозной крови стандартным двухэтапным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование *СЕТР*Taq1B (+ 279G > A) (rs708272) проводилось методом ПЦР в режиме реального времени. В качестве критерия эффективности гиполипидемической терапии принималось условие достижения целевых значений ХС ЛНП. Розувастатин показал значительный гиполипидемический эффект в отношении всех исследованных показателей липидного обмена уже на 24 неделе лечения. Установлено влияние функционально значимого полиморфизма гена белка-переносчика эфиров холестерина на изменение показателей липидного обмена, что может косвенно указывать на вовлеченность данного гена в патогенез гиперлипидемий у обследованных нами больных ИБС.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, белок-переносчик эфиров холестерина, гиперлипидемия

**EFFECT OF GENOTYPE ESTER TRANSFER – PROTEIN  
CHOLESTEROL EFFECTIVE LIPID-LOWERING ROSUVASTATIN  
IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE  
AND ATHEROGENIC HYPERLIPIDEMIA**

**Zvyagina M.V., Mal G.S., Bushueva O.Y., Bykanova M.A., Letova I.M.,  
Gribovskaya I.A., Solodilova M.A., Polonikov A.V.**  
*Kursk State Medical University, Kursk, e-mail: mgalina@mail.ru*

The article discusses aspects of the impact of gene polymorphism ester transfer – protein on the effectiveness of cholesterol lowering therapy. Large-scale genomic studies have found a significant correlation between gene polymorphism and *СЕТР* concentration of HDL than among other loci. Isolation of genomic DNA was carried out of the standard two-stage venous blood by phenol-chloroform extraction. Genotyping *СЕТР*Taq1B (+ 279G > A) (rs708272) was performed by PCR in real time. As a criterion for the effectiveness of lipid-lowering therapy, accept the terms of achieving target LDL cholesterol values. Rosuvastatin showed a significant lipid-lowering effect in respect of all the studied parameters of lipid metabolism is already at 24 weeks of treatment. The influence of functionally significant polymorphism ester transfer protein cholesterol by changing parameters of lipid metabolism, which may indirectly indicate the involvement of this gene in the pathogenesis of hyperlipidemia in the surveyed patients with CHD.

**Keywords:** coronary heart disease, ester transfer – protein cholesterol, hyperlipidemia

Основным белком, участвующим в метаболизме липидов и обеспечивающим обратный транспорт ХС, является белок – переносчик ЭХ – *СЕТР*. Функциональная активность *СЕТР* заключается в переносе ЭХ от ХС ЛВП к атерогенным ЛП (ХС ЛПП, ХС ЛОНП, ХС ЛНП), что ведет к снижению уровня ХС ЛВП [9]. В то же время происходит обратный перенос ТГ в направлении от ХС ЛНП, ХС ЛОНП к ХС ЛВП [2].

*СЕТР* как участник липидного обмена, обладает двойственной функцией и может

проявлять как анти-, так и проатерогенные свойства [11]. Во-первых, проатерогенные свойства *СЕТР* выражаются в снижении переноса ЭХ от ХС ЛВП к печеночному рецептору V1 (SR-V1) по прямому пути обратного транспорта холестерина и в увеличении тока ЭХ через атерогенные ХС ЛОНП, ХС ЛПП и ХС ЛНП. Таким образом, эти частицы переносят большее количество ЭХ, что потенциально приводит к увеличению содержания ХС в периферических тканях и артериальной стенке. Во-вторых,

при постпрандиальной гипертриглицеридемии активируется перенос ТГ от ХС ЛОНП к ХС ЛВП, что ведет к образованию обогащенных ТГ ХС ЛВП с последующей редукцией их размера и интенсивной экскрецией почками [5]. Тем не менее СЕТР может проявлять антиатерогенные свойства, т.к. содействует передаче ЭХ к печени через не прямой путь RST, осуществляемый преимущественно через активацию печеночного ХС ЛНП-рецептора. Направленность и степень влияния СЕТР на ЛО зависят не только от корригируемых факторов, таких как, например, концентрация свободных жирных кислот, образованных в результате гидролиза пищевых ТГ, но и генетически детерминированных. Ген, кодирующий белок-переносчик ЭХ (*СЕТР*), клонированный Drayna D. и Lawn R.M. (1987), локализуется на 16 хромосоме (16q21), включает 16 экзонов и 15 интронов [11]. Крупномасштабные геномные исследования обнаружили более значимую корреляцию между полиморфизмами гена *СЕТР* и концентрацией ХС ЛВП, чем среди других локусов [10]. Одним из частых аллельных вариантов гена СЕТР является замена гуанина (G) на аденин (A) в положении 279 интрона 1 – TaqIB (rs708272) полиморфизм [8]. Часто встречающийся аллель G (наличие сайта рестрикции – «B1») связан с более высокой активностью *СЕТР* в сравнении с редким A аллелем (отсутствие сайта рестрикции – «B2»). Носительство редкого мутантного A аллеля ведет к снижению активности *СЕТР*, что проявляется в повышении уровня ХС ЛВП и потенциально рассматривается как антиатерогенное влияние [5]. Несмотря на ряд положительных результатов, в исследованиях с использованием в качестве конечных точек оценки не только динамики показателей липидного обмена, но и диаметр просвета коронарных артерий [8], влияние генотипа TaqIB на эффективность терапии статинами остается спорным [9].

**Цель исследования** – изучение влияния полиморфизма гена белка-переносчика ЭХ на эффективность гиполипидемической терапии розувастатином у пациентов с атерогенными ГЛП, страдающих ИБС.

## Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 62 мужчины с ГЛП, а также ИБС, относящихся к группе очень высокого риска развития сердечно-сосудистых осложнений по шкале SCORE [1]. Выбор мужчин обусловлен большей заболеваемостью ИБС. Исследование проведено рандомизированным, простым, проспективным методом. Группы пациентов формировались по следующим стратификационным критериям: возраст от 40 до 61 года, I или II функциональный класс стабильной стенокардии, наличие изолированной (IIA) или сочетанной (IIIB) гиперлипидемии. Пациенты имели индекс массы тела 26,8 (25,6–27,8). Фармакологическая коррекция проводилась розувастатином в дозе 10 мг/сутки в течение года с контролем параметров липидного обмена (ЛО) в момент включения, через 4, 8, 24 и 48 недель (0, 1, 2, 3, 4 точки исследования соответственно). В качестве критерия эффективности гиполипидемической терапии принималось условие достижения целевых значений ХС ЛНП [3].

Кровь для исследования брали из локтевой вены утром натощак, не ранее чем через 12–14 часов после приема пищи. Содержание ОХС, ТГ в сыворотке крови определяли энзиматическим калориметрическим методом с использованием диагностических наборов фирмы «Олвекс-диагностикум» (Россия, г. Санкт-Петербург), биохимическим анализатором ROKI («Олвекс-диагностикум», Россия, г. Санкт-Петербург). Уровень холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП) оценивали тем же методом после предварительного осаждения хиломикрон, ХС ЛОНП и ХС ЛНП при добавлении к образцу фосфорновольфрамовой кислоты и Mg. Содержание ХС ЛНП определяли расчетным путем по формулам Фридвальда, уровень ХС, не связанного с ХС ЛВП, и атерогенный индекс (АИ) вычисляли по общепринятым стандартным формулам [3]. Выделение геномной ДНК осуществлялось из венозной крови стандартным двухэтапным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизмов *СЕТР*Taq1B (+279G > A) (rs708272) проведено ПЦР в режиме реального времени с использованием TaqMan зондов для дискриминации аллелей на амплификаторе CFX96 Bio-Rad Laboratories (США) с использованием коммерческих наборов реактивов TaqMan SNP Genotyping Assays фирмы Applied Biosystems (США).

Проверка вида распределения осуществлялась с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Сравнение групп проводилось с использованием методов непараметрической статистики с поправкой Бонферрони на множественные сравнения. Динамика изменений уровня липидов и липопротеидов в ходе фармакологической коррекции оценивалась ранговым дисперсионным анализом по Фридмену. Для сравнения показателей ЛО в ходе лечения с базальным уровнем использовался критерий Вилкоксона. Процент снижения уровня параметров ЛО в каждой точке рассчитывался:

$$\text{Процент снижения} = \frac{\text{Уровень ЛП в точке исследования} - \text{Базальный уровень ЛП}}{\text{Базальный уровень ЛП}} \cdot 100.$$

Влияние генотипов на уровень липидов в каждой точке исследования оценивалось критерием Манна – Уитни. При оценке влияния полиморфизма на показатели ЛО тестировались три генетические модели: аддитивная, доминантная, рецессивная. Критический уровень значимости для исследования принимался равным 0,05. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием Statistica v.10 (StatSoft Inc., США).

**Результаты исследования и их обсуждение**

В таблице представлены данные по базальному уровню и динамике изменений показателей липидного обмена (ЛО) у пациентов с ИБС в ходе гиполипидемической монотерапии розувастатином. Учитывая ненормальность распределений изучаемых показателей, оцененную критерием Колмогорова – Смирнова ( $P < 0,05$ ), значение каждого из параметров ЛО было выражено в виде медианы и интерквартильного размаха (25–75 квартили). Как видно из таблицы, к 24 неделе терапии у всех пациентов наблю-

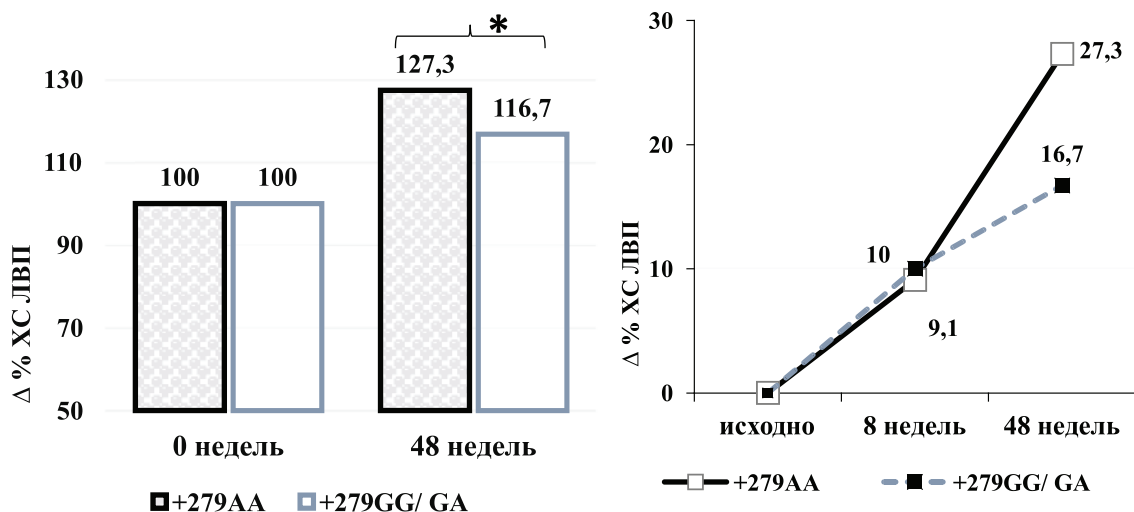
далось статистически значимое снижение уровня ОХС, ХС ЛНП, ТГ, ХС не ЛВП, АИ на фоне повышения уровня ХС ЛВП, тем самым свидетельствуя об эффективности используемого статинового препарата в лечении атерогенных гиперлипидемий у пациентов.

Затем нами проведена оценка влияния частого полиморфизма гена белка-переносчика ЭХ (CETP) – одного из ключевых ферментов в регуляции метаболизма липидов и липопротеидов, на эффективность лечения больных розувастатином. В таблице представлены данные по оценке связи генотипов CETP с эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином у больных ИБС с атерогенными ГЛП. Среди протестированных генетических моделей фенотипических эффектов CETP таq1В полиморфизма на уровень показателей ЛО рецессивная модель показала наиболее значимые гено-фенотипические взаимосвязи, представленные в таблице.

Связь генотипов CETP с эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином у больных ишемической болезнью сердца

Генотипы CETP	N	Показатели липидного обмена, медиана (интерквартильный размах), ммоль/л				
		0 неделя	4 неделя	8 неделя	24 неделя	48 неделя
Общий холестерин ( $P^b < 0,001$ ; $P^c = 0,012$ )						
+279GG/ GA	57	6,1 (5,9–6,4)	5,1 (4,5–5,6)	4,0 (3,8–4,0)	3,8 (3,6–3,9)	3,7 (3,5–3,8)
+279AA	5	6,0 (5,9–6,6)	5,2 (5,0–5,4)	4,0 (4,0–4,1)	3,8 (3,3–4,0)	3,7 (3,3–4,0)
$P^a$		0,706	0,912	0,841	1,000	0,960
Холестерин липопротеидов низкой плотности ( $P^b < 0,001$ ; $P^c = 0,003$ )						
+279GG/ GA	57	4,2 (3,9–4,6)	3,1 (2,5–3,5)	1,8 (1,8–1,9)	1,7 (1,6–1,8)	1,7 (1,5–1,8)
+279AA	5	4,1 (2,8–5,1)	2,4 (2,3–3,3)	1,5 (0,9–1,9)	1,2 (1,2–1,4)	1,2 (1,2–1,3)
$P^a$		0,763	0,152	0,185	0,802	0,658
Триглицериды ( $P^b < 0,001$ ; $P^c = 0,013$ )						
+279GG/ GA	57	1,7 (1,6–1,8)	1,6 (1,6–1,8)	1,6 (1,5–1,7)	1,6 (1,4–1,7)	1,6 (1,4–1,7)
+279AA	5	1,6 (1,6–1,7)	1,6 (1,6–1,7)	1,6 (1,4–1,6)	1,6 (1,3–1,6)	1,5 (1,3–1,6)
$P^a$		0,688	0,404	0,513	0,598	0,363
Холестерин липопротеидов высокой плотности ( $P^b < 0,001$ ; $P^c = 0,004$ )						
+279GG/ GA	57	1,0 (0,9–1,1)	1,0 (1,0–1,2)	1,1 (1,1–1,2)	1,2 (1,1–1,4)	1,2 (1,1–1,3)
+279AA	5	1,1 (1,0–2,1)	1,2 (1,3–2,1)	1,2 (1,3–2,1)	1,3 (1,4–2,1)	1,3 (1,4–2,0)
$P^a$		0,130	<b>0,027*</b>	<b>0,014*</b>	<b>0,022*</b>	<b>0,018*</b>
Холестерин, не связанный с липопротеидами высокой плотности ( $P^b < 0,001$ ; $P^c = 0,002$ )						
+279GG/ GA	57	5,1 (4,8–5,4)	3,9 (3,2–4,3)	2,7 (2,6–2,9)	2,5 (2,4–2,6)	2,4 (2,1–2,5)
+279AA	5	4,9 (3,6–5,7)	3,2 (2,8–4,1)	2,1 (1,7–2,6)	1,9 (1,8–2,0)	1,9 (1,9–2,0)
$P^a$		0,563	0,137	<b>0,051*</b>	0,482	0,594
Атерогенный индекс ( $P^b < 0,001$ ; $P^c = 0,002$ )						
+279GG/ GA	57	5,1 (4,3–5,7)	3,4 (2,7–4,0)	2,2 (2,0–2,6)	2,0 (1,8–2,3)	1,9 (1,6–2,1)
+279AA	5	4,8 (3,6–5,1)	2,3 (1,4–3,2)	1,6 (0,8–1,9)	1,2 (0,9–1,4)	1,3 (1,0–1,4)
$P^a$		0,362	0,065	<b>0,013*</b>	0,658	0,970

Примечания: <sup>a</sup> – P-уровень критерия Манна – Уитни при сравнении показателей липидного обмена между генотипами CETP на каждом этапе лечения; <sup>b</sup> – P-уровень критерия Фридмана для оценки значимости изменений показателей липидного обмена в ходе гиполипидемической терапии для генотипов +279GG/ GA; <sup>c</sup> – то же для генотипа +279AA; \* – статистически значимые различия в показателях липидного обмена между генотипами CETP на каждом этапе лечения.



Влияние CETP генотипов на процент снижения показателя ХС ЛВП по сравнению с исходным значением к 48 неделе лечения розувастатином в дозе 10 мг в сутки.

\* –  $P < 0,05$  для критерия Манна – Уитни

Как можно увидеть из таблицы, гомозиготы +279AA имели изначально менее выраженные нарушения показателей липидного обмена, а именно общего ОХС, ХС ЛНП, ХС, не связанного с ЛВП и АИ, а также больший базальный уровень ХС ЛВП, участвующего в обратном транспорте ХС, и обладающего атеропротективными свойствами.

Динамика изменений показателя ХС ЛВП терапии розувастатином также отличалась у пациентов с генотипом +279AA в сравнении с другими генотипами CETP. Так, на фоне гиполипидемической терапии розувастатином у гомозигот +279AA преобладание уровня ХС ЛНП обнаружено уже на 8 неделе и сохранилось (рисунок) в течение всего периода исследования (+27,3%,  $P^c = 0,004$ ), сравнительно с носителями других генотипов (+16,7%,  $P^b < 0,001$  к 48 неделе).

Розувастатин показал значительный гиполипидемический эффект в отношении всех исследованных показателей липидного обмена уже на 24 неделе лечения. Динамика изменений показателей липидного обмена на фоне лечения отличалась у пациентов с генотипом +279AA в сравнении с другими генотипами CETP. В сравнении с генотипами +279GG и GA носители генотипа +279AA имели более выраженное увеличение уровня ХС ЛВП ( $P < 0,01$ ) на фоне фармакологической коррекции розувастатином. С одной стороны, нами установлено влияние функционально значимого полиморфизма гена белка-переносчика ЭХ на изменение показателей липидного обмена, что может косвенно указывать на

вовлеченность данного гена в патогенез гиперлипидемий у обследованных нами больных ИБС.

#### Список литературы

1. Бойцов С.А. Механизмы снижения смертности от ишемической болезни сердца в разных странах мира // Профилактическая медицина. – 2013. – № 5. – С. 9–19. – Библиогр: С. 18–19.
2. Жилиева Ю.А. Состояние параметров перекисного окисления липидов крови и эластических свойств сосудистой стенки у больных ишемической болезнью сердца на фоне терапии дженерическими статинами // Человек и его здоровье. – 2013. – № 4. – С. 68–75.
3. Косарев В.В. Клиническая фармакология лекарственных средств, применяемых при сердечно-сосудистых заболеваниях: учеб. пособие / В.В. Косарев, С.А. Бабанов; Минздравсоцразвития РФ, ГОУ ВПО «СамГМУ». – Самара: Офорт, 2010. – 139 с.
4. Маль Г.С., Звягина М.В., Грибовская И.А. Влияние генетических маркеров на эффективность гиполипидемической терапии у больных ишемической болезнью сердца с изолированной и сочетанной гиперлипидемией // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 10. – С. 101–102.
5. Медведев И.Н. Влияние ловастатина на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов у больных артериальной гипертензией с дислипидемией / И.Н. Медведев, И.А. Скоряткина // Клиническая медицина: научно-практический журнал. – 2010. – Т. 88, № 2. – С. 38–40.
6. ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk / D.C. Goff et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2014. – Vol. 63, № 25. – P. 2935–2959.
7. ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults / J. Neil [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2014. – Vol. 63, № 25. – P. 2889–2934.
8. Chapman M.J. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and and cholesteryl ester transfer protein inhibitors // Eur. Heart J. – 2010. – Vol. 31, № 4. – P. 149–164.
9. Corella D. Common cholesteryl ester transfer protein gene variation related to high-density lipoprotein cholesterol is

not associated with decreased coronary heart disease risk after a 10-year follow-up in a Mediterranean cohort: Modulation by alcohol consumption // *Atherosclerosis*. – 2010. – Vol. 3, № 12. – P. 531–538.

10. Das B. Genetic variants at the APOE, lipoprotein lipase (LpL), cholesteryl ester transfer protein (CETP), and endothelial nitric oxide (eNOS) genes and coronary artery disease (CAD): CETP Taq1 B2B2 associates with lower risk of CAD in Asian Indians // *J Community Genet*. – 2010. – Vol. 13, № 2 – P. 55–62.

11. Kathiresan S. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia / S. Kathiresan, C.J. Willer, G.M. Peloso // *Nat Genet* – 2009. – Vol. 8, № 14. – P. 56–65.

### References

1. Bojcov S.A. Mehanizmy snizhenija smernosti ot ishemicheskoj bolezni serdca v raznyh stranah mira // *Profilakticheskaja medicina*. 2013. no. 5. S. 9–19. Bibliogr: pp. 18–19.

2. Zhiljaeva Ju.A. Sostojanie parametrov perekisnogo okislenija lipidov krvi i jelasticheskijh svojstv sosudistoj stenki u bolnyh ishemicheskoj bolezni serdca na fone terapii dzhenericheskimii statinami // *Chelovek i ego zdorovje*. 2013. no. 4. pp. 68–75.

3. Kosarev V.V. Klinicheskaja farmakologija lekarstvennyh sredstv, primenjaemyh pri serdechno-sosudistyh zabolevanijah: ucheb. posobie / V.V. Kosarev, S.A. Babanov; Minzdravsocrazvitija RF, GOU VPO «SamGMU». Samara: Ofort, 2010. 139 p.

4. Mal G.S., Zvjagina M.V., Gribovskaja I.A. Vlijanie genicheskijh markerov na jeffektivnost gipolipidemicheskoj terapii u bolnyh ishemicheskoj bolezni serdca s izolirovannoj i sochetannoj giperlipidemiej // *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamentalnyh issledovanij*. 2013. no. 10. pp. 101–102.

5. Medvedev I.N. Vlijanie lovastatina na adgezivno-agregacionnuju funkciju trombocitov u bolnyh arterialnoj gipertoniej s dislipidemiej / I.N. Medvedev, I.A. Skorjatina // *Klinicheskaja medicina: nauchno-prakticheskij zhurnal*. 2010. T. 88, no. 2. pp. 38–40.

6. ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk / D.C. Goff et al. // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2014. Vol. 63, no. 25. pp. 2935–2959.

7. ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults / J. Neil [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2014. Vol. 63, no. 25. pp. 2889–2934.

8. Chapman M.J. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors // *Eur. Heart J*. 2010. Vol. 31, no. 4. pp. 149–164.

9. Corella D. Common cholesteryl ester transfer protein gene variation related to high-density lipoprotein cholesterol is not associated with decreased coronary heart disease risk after a 10-year follow-up in a Mediterranean cohort: Modulation by alcohol consumption // *Atherosclerosis*. 2010. Vol. 3, no. 12. pp. 531–538.

10. Das B. Genetic variants at the APOE, lipoprotein lipase (LpL), cholesteryl ester transfer protein (CETP), and endothelial nitric oxide (eNOS) genes and coronary artery disease (CAD): CETP Taq1 B2B2 associates with lower risk of CAD in Asian Indians // *J Community Genet*. 2010. Vol. 13, no. 2 pp. 55–62.

11. Kathiresan S. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia / S. Kathiresan, C.J. Willer, G.M. Peloso // *Nat Genet* 2009. Vol. 8, no. 14. pp. 56–65.

### Рецензенты:

Медведев И.И., д.м.н., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой адаптивной физической культуры и медико-биологических наук, Российский институт социального образования (филиал) ГБОУ ВПО РГСУ, г. Курск;

Яцун С.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой медико-биологических дисциплин, ФГБОУ ВПО «Курский государственный университет» Минобрнауки РФ, г. Курск.

Работа поступила в редакцию 06.03.2015.