

УДК 616.13 – 004.6 (575.2) (04)

**АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЕ ПОРАЖЕНИЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ
И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА-Е
У МУЖЧИН-КЫРГЫЗОВ С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ**

М.А. Павленко – аспирант,
О.С. Лунегова – ст. научн. сотрудник,
Ж.Т. Исакова – канд. мед. наук,
А.А. Алдашев – академик НАН КР, докт. биол. наук,
Э.М. Миррахимов – докт. мед. наук, профессор

In this article the features of apoE gene polymorphism with the ethnic consideration are described. The influence of apoE gene polymorphism on progressing of atherosclerotic process in carotid arteries in Kyrgyz men with dislipidemia is assessed.

В настоящее время атеросклеротическая болезнь (АБ) занимает лидирующее место среди причин смертности и инвалидности в нашей республике, в связи с чем возрос интерес к изучению данной проблемы.

В последнее время наибольшее количество доказательств о взаимосвязи с АБ получено для эпсилон полиморфизма гена аполипопротеина Е (апо-Е), при котором происходит замена цитозина на тимин в положении 3937 и 4075, что приводит к синтезу протеина с аминокислотами цистеин или аргинин в положении 112 и 158 и формируются наиболее распространенные аллельные варианты: Е2, Е3 и Е4, и формируемые ими фенотипы: три гомозиготных (Е4/Е4, Е3/Е3, Е2/Е2) и три гетерозиготных (Е3/Е4, Е2/Е4, Е2/Е3).

Поскольку исследование данного полиморфизма апо-Е в Кыргызстане не проводилось, цель данной работы – оценка взаимосвязи эпсилон полиморфизма гена апо-Е с выраженностью каротидного атеросклероза сонных артерий (СА) у мужчин-кыргызов с дислипидемией (ДЛП).

Материалы и методы. Исследовано 103 мужчины-кыргыза с ДЛП в возрасте от 33 до 68 (средний возраст 49,6±6,32) лет, из которых 48 пациентов с коронарной болезнью сердца

(КБС) и 55, сходных по возрасту и основным факторам риска (ФР), пациентов с ДЛП без КБС. Дислипидемией считается состояние, при котором отмечается хотя бы один из перечисленных показателей ОХ ≥ 5,2 ммоль/л и/или ЛПНП-ХС ≥ 2,56 ммоль/л и/или ЛПВП-ХС < 1,03 ммоль/л и/или ТГ ≥ 1,7 ммоль/л.

Пациентам проводили анамнез с определением антропометрических показателей (рост, вес, объем талии (ОТ) и бедер (ОБ)), вычитыванием индекса массы тела (ИМТ), который рассчитывался по формуле: ИМТ = рост (м)/вес (кг)², и измерением уровня систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД).

Методика определения липидного спектра описана нами ранее [1].

Выделение геномной ДНК из венозной крови обследуемых осуществляли по оригинальной методике генотипирования [2]. В данной работе ген апо-Е тестировался на наличие полиморфизма в позиции 3937С/Т и 4075С/Т. Структура прямого и обратного праймеров: 5'-ACAGA-ATTTCG-CCCCG-GCCTG-GTACA-C-3' и 5'-TAAGCTTGGCACGGC-TGTCC-AAGGA-3'. Гидролиз проводили рестриктазой Hha I (BioLabs, Англия) с сайтом распознавания GCGC.

Дуплексное сканирование экстракраниального отдела СА и расчет параметров проводили по стандартной методике, описанной нами ранее [1].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы приложения Microsoft – Statistica 6.0. Для установления достоверности различий при сравнении результатов для переменных с нормальным распределением использовался t-критерий Стьюдента, а для переменных с непараметрическим распределением – Mann-Whitney U test. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение для переменных с нормальным распределением и как 95% доверительный интервал (95% ДИ) для переменных с непараметрическим распределением.

Результаты и обсуждение. Результаты нашего исследования показали, что у пациентов с E2/E3 фенотипом атеросклеротическое поражение СА было выявлено только у одного пациента (2,3 против 15%, $p < 0,05$). Наличие E2 аллели также ассоциировалось с более редкой встречаемостью атеросклеротического поражения СА (1,2 против 8,3%, $p < 0,05$). Напротив, у всех пациентов с E4/E4 фенотипом было выявлено атеросклеротическое поражение СА (7 против 0%, $p < 0,05$).

При анализе данных дуплексного сканирования СА атеросклеротические бляшки наиболее часто встречались у пациентов с E3/E4+E4/E4 фенотипом (54,5%), что было достоверно выше по сравнению с пациентами с E2/E3+E2/E4 фенотипом (9,1% $p = 0,035$). Наличие E3/E3 фенотипа также ассоциировалось с более частой встречаемостью атеросклеротического поражения СА по сравнению с E2/E3+E2/E4 фенотипом (42,8 против 9,1%, $p < 0,05$). Следует отметить, что атеросклеротическое поражение СА в группе с E2/E3+E2/E4 фенотипом было выявлено только у одного пациента. Соответственно, в этой группе отмечались наименьшие показатели толщины интимы меди (ТИМ) max 0,10 (0,03–0,18) см против 0,14 (0,12–0,16) см, у пациентов с E3/E3; и 0,13 (0,10–0,16) см с E3/E4+E4/E4 фенотипом ($p < 0,05$). Лица с E3/E3 и E3/E4+E4/E4 фенотипами по количеству бляшек и степени

выраженности атеросклеротического поражения были сопоставимы. Однако, ТИМ d была достоверно выше в группе с E3/E3 фенотипом (0,066 \pm 0,013 против 0,061 \pm 0,015 $p = 0,044$), хотя этот показатель был в пределах нормы (см. таблицу).

При проведении корреляционного анализа была выявлена отрицательная корреляционная связь в группе с ДЛП по полиморфизму апо-E у носителей E2/E3 фенотипа и E2 аллели с ТИМ max ($r = -0,24$, $p = 0,01$ и $r = -0,26$, $p = 0,007$ соответственно), выраженностью атеросклеротического поражения в баллах ($r = -0,21$, $p = 0,03$ и $r = -0,23$, $p = 0,01$) и наличием атеросклеротического поражения ($r = -0,21$, $p = 0,03$ и $r = -0,23$, $p = 0,01$), положительная корреляционная связь E4/E4 фенотипа с S общ ($r = 0,23$, $p = 0,01$), S max ($r = 0,23$, $p = 0,01$) и наличием атеросклеротического поражения ($r = 0,21$, $p = 0,03$). По другим показателям корреляционной связи выявлено не было. Таким образом, E2 аллель и E2/E3 фенотип играют протективную роль, а E4/E4 фенотип – негативную роль в развитии атеросклеротического поражения СА.

По степени стеноза бляшки, вызывающие малый стеноз у носителей E2/E3+E2/E4 фенотипа, выявлены не были, и по сравнению с лицами E3/E3 фенотипом (0% против 40%, $p < 0,01$) и носителями E3/E4+E4/E4 фенотипа (0% против 54,5%, $p < 0,004$) обнаружены значимые отличия. Достоверных различий по множественному поражению и по умеренному стенозу СА выявлено не было (см. рисунок).

Для выявления влияния полиморфизма гена апо-E на развитие атеросклероза СА был проведен линейный регрессионный анализ с включением в качестве зависимой переменной – наличие атеросклеротических бляшек СА, а в качестве независимой – последовательно различные изоформы белка апо-E (E2/E3, E3/E3, E3/E4, E4/E4, E2 аллель, E3 аллель, E4 аллель). В результате была отмечена отрицательная взаимосвязь атеросклеротического поражения СА с E2 аллелью ($R^2 = 5,2\%$, $\beta = -0,23$, $p = 0,019$), E2/E3 ($R^2 = 4,5\%$, $\beta = -0,21$, $p = 0,03$), и положительная с E4/E4 ($R^2 = 4,1\%$, $\beta = 0,21$, $p = 0,03$).

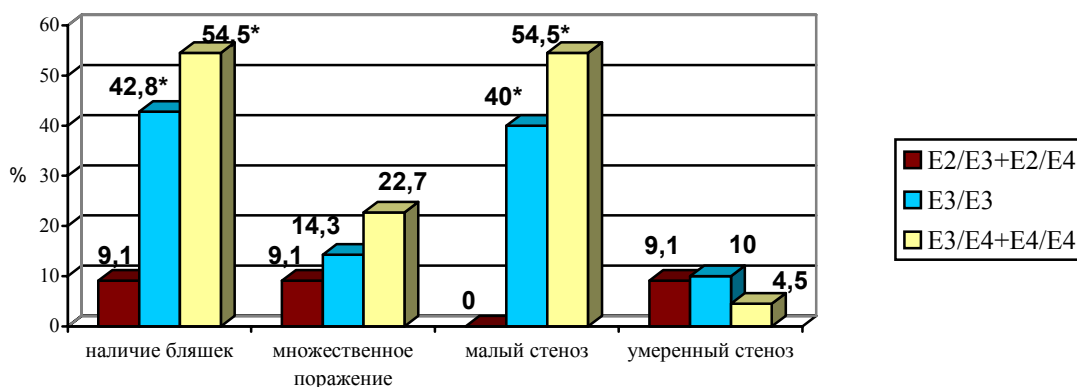
Характеристика показателей дуплексного сканирования сонных артерий в зависимости от фенотипа

Переменные	E2/E3+E2/E4 n=11	E3/E3 n=70	E3/E4+E4/E4 n=22
ОСА s; (см)	0,64±0,08	0,62±0,07	0,62±0,07
ОСА d; (см)	0,60±0,09	0,58±0,07	0,59±0,07
ТИМ s; (см)	0,057±0,01	0,062±0,013	0,057±0,015
ТИМ d; (см)	0,060±0,011	0,066±0,013*	0,061±0,015
V s; (см/сек)	46,3±9,8	46,9±9,4	44,1±9,5
V d; (см/сек)	13,2±2,2	12,8±3,0	12,6±3,0
s/d;	3,6±0,97	3,9±1,0	3,6±0,79
R/I;	0,71±0,06	0,72±0,06	0,71±0,04
ТИМ max; (см) [§]	0,10 (0,03–0,18)	0,14 (0,12–0,16) [#]	0,13 (0,10–0,16) [†]
Бляшки; (%)	1 (9,1)	30 (42,8) [#]	12 (54,5) [†]
S общ; (см ²) [§]	0,088 (0–0,28)	0,10 (0,06–0,14)	0,15 (0,06–0,23)
S max; (см ²) [§]	0,04 (0–0,12)	0,09 (0,06–0,12)	0,10 (0,05–0,14)
Макс. стеноз; (%) [§]	4,65 (0–15)	10,1 (7–13,2)	11,3 (6,3–16,4)
ВАП (баллы) [§]	0,27 (0,16–0,71)	0,73 (0,57–0,89) [#]	0,64 (0,38–0,89) [†]

[§] – данные представлены как средний (95% ДИ)

* p_{E3/E3 - E3/E4+E4/E4} < 0,05, # p_{E3/E3 - E2/E3+E2/E4} < 0,05, † p_{E3/E4+E4/E4 - E2/E3+E2/E4} < 0,05

ОСА s и d – диаметр общей сонной артерии в систолу и диастолу, ТИМ s и d – толщина интимы меди в систолу и диастолу, V s и d – скорость кровотока в систолу и диастолу, s/d – отношение скорости кровотока в систолу к скорости кровотока в диастолу, RI – индекс периферического сопротивления (резистивный индекс), S общ. – площадь атеросклеротической бляшки, S max – максимальный стеноз, ВАП – выраженность атеросклеротического поражения.



Выраженность атеросклеротического поражения сонных артерий в зависимости от фенотипа.

* – p < 0,05 по сравнению с пациентами с E2/E3+E2/E4.

В последующем был проведен пошаговый многофакторный регрессионный анализ с включением наличия атеросклеротических бляшек в качестве зависимой переменной и

основных сердечно-сосудистых факторов риска (возраст, СД 2 типа, курение, отягощенная наследственность по КБС, ИМТ, ОТ, САД, ДАД), а также липидных показателей (ОХС, ЛПВП-ХС, ЛПНП-ХС, ТГ, не-ЛПВП-ХС, ИА, ТГ/ЛПВП, концентрация апо-Е) и E2 аллель, E2/E3 и E4/E4 изоформы апо-Е белка в качестве независимых переменных. Полученная модель описывала 32,3 (R^2) всех случаев атеросклероза СА.

Было установлено, что в исследуемой нами группе независимыми и значимыми факторами, влияющими на наличие атеросклеротических бляшек в СА, являлись возраст, уровень ЛПНП-ХС, ЛПВП-ХС. Факторами риска, вошедшими в модель, но не достигшими уровня достоверности были E4/E4, E2/E3, СД 2 типа, ДАД, ИА, ТГ/ЛПВП.

Таким образом, у мужчин кыргызов с ДЛП была выявлена взаимосвязь E4/E4 фенотипа с наличием атеросклеротического поражения СА. Наоборот, у носителей E2/E3+E2/E4 и E2 аллели атеросклеротическое поражение СА выявлялось редко. Однако, несмотря на то, что E2/E3 и E4/E4 фенотипы вошли в регрессионную модель с использованием в качестве зависимой переменной наличие атеросклеротических бляшек СА, уровня достоверности они не достигали, и основными значимыми и независимыми факторами риска являлись возраст, ЛПНП-ХС, ЛПВП-ХС.

Данные литературы о взаимосвязи эпислон полиморфизма апо-Е и атеросклеротическим поражением СА также достаточно противоречивы. Так, в исследовании E. Ilveskoski [3], у носителей E3/E2 фенотипа отмечались наиболее низкие значения ТИМ, а взаимосвязи между E4 аллелью и увеличением ТИМ найдено не было. В многоцентровом исследовании de Andrade M. [4], напротив, носительство E2 аллели увеличивало риск развития каротидного атеросклероза. В исследованиях Kogawa K. [5] и итальянском исследовании Cattin L. [6] была выявлена ассоциация наличия E4 аллели с утолщением ТИМ СА. Такие же результаты были получены Vauhkonen I. [7] в финском исследовании у больных с СД 2 типа. Причины противоречивости результатов различных исследований, возможно, связаны с

различным отбором пациентов и дизайном исследований.

В нашем исследовании протективная роль E2 аллели, E2/E3 фенотипа и более выраженное поражение СА у носителей E4/E4 фенотипа, вероятнее всего, обусловлено влиянием данного полиморфизма на липидный обмен, поскольку при проведении многофакторного регрессионного анализа после включения основных липидных показателей основными независимыми факторами стали уровень ЛПНП-ХС и ЛПВП-ХС, а значимость носительства различных изоформ апо-Е белка терялась.

Литература

1. Пороцкая Е.Н., Лунегова О.С., Норузбаева А.М. и др. Распространение частот генотипов и аллелей C516T полиморфизма гена апо-В у этнических мужчин-кыргызов с дислипидемией // ЦАМЖ. – 2007. – Т. 13. – №4–5. – С. 290–294.
2. Hison J.E. and Vernier D.T. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI // J. Lipid. Res. – 1990. – Vol. 31. – P. 545–548.
3. Ilveskoski E., Loimaala A., Mercuri M.F. et al. Apolipoprotein E polymorphism and carotid artery intima-media thickness in a random sample of middle-aged men // Atherosclerosis. – 2000. – Vol. 153. – P. 147–153.
4. de Andrade M., Thandi I., Brown S., et al. Relationship of the apolipoprotein E polymorphism with carotid artery atherosclerosis // Am J. Hum. Genet. – 1995. – Vol. 56. – P. 1379–90.
5. Kogawa K., Nishizawa Y., Hosoi M. et al. Effect of polymorphism of apolipoprotein E and angiotensin-converting enzyme genes on arterial wall thickness // Diabetes. – 1997. – Vol. 46. – P. 682–7.
6. Cattin L., Fiscaro M., Tonizzo M. et al. Polymorphism of the apolipoprotein E gene and early carotid atherosclerosis defined by ultrasonography in asymptomatic adults // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 1997. – Vol. 17. – P. 91–94.
7. Vauhkonen I., Niskanen L., Ryyänänen M. et al. Divergent association of apolipoprotein E polymorphism with vascular disease in patients with NIDDM and control subjects // Diabet. Med. – 1997. – Vol. 14. – P. 748–56.