

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА RS3846663 ГЕНА *HMGCR* С ИМТ

Оседко О.Я.¹, Оседко А.В.¹, Котловский М.Ю.¹, Покровский А.А.^{1,2}, Искра И.П.¹,
Дыгай А.М.³, Котловский Ю.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, e-mail: alizz@yandex.ru;

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск;

³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга», Томск

ГМГ-КоА-редуктаза является одним из ключевых ферментов, регулирующих синтез холестерина в печени на этапе превращения ГМГ-КоА в мевалоновую кислоту путем двухступенчатого восстановления за счет NADH. Эта реакция является скоростью-лимитирующей стадией на пути синтеза холестерина. Полиморфные варианты гена *HMGCR* могут влиять на метаболизм и транспорт липопротеидов плазмы крови и эффективность терапии статинами. Данный ген локализован на хромосоме 5 в области q13.3-q14.3, состоит из 20 экзонов, кодирует белок, состоящий из 888 аминокислот, который широко экспрессируется по всему телу. Целью работы являлось изучение ассоциации полиморфного маркера rs3846663 гена *HMGCR* с индексом массы тела и последующее исследование концентрации ОХ у людей с нормальным весом, избыточным весом и ожирением. Группа исследования состояла из условно здоровых лиц в количестве 173 человек, проживающих в г. Красноярске. Для идентификации однонуклеотидного полиморфизма использовали времяпролетный MALDI-TOF масс-спектрометр. В ходе исследования обнаружено статистически достоверное различие в уровне общего холестерина у людей с избыточным весом и ожирением. При носительстве генотипа ТТ концентрация ОХ была выше на 0,76 ммоль/л в сравнении со значениями носителей генотипа СС. В случае носительства аллеля Т концентрация ОХ была выше на 0,51 ммоль/л. Ассоциации генотипов полиморфного маркера rs3846663 гена *HMGCR* с ИМТ выявлено не было.

Ключевые слова: *HMGCR*, полиморфизм, rs3846663, симвастатин, ишемическая болезнь сердца, гиперхолестеринемия, ИМТ, холестерин.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISM RS3846663 IN HMG-CoA REDUCTASE GENE WITH BMI

Osedko O.Y.¹, Osedko A.V.¹, Kotlovskiy M.Y.¹, Pokrovskiy A.A.^{1,2}, Iskra I.P.¹,
Dygai A.M.³, Kotlovskiy Y.V.¹

¹Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, e-mail: alizz@yandex.ru;

²Siberian Federal University, Krasnoyarsk;

³Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D.Goldberg, Tomsk

The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase is one of the key enzymes which regulate cholesterol synthesis in the liver during the two-step reduction of HMG-CoA to mevalonic acid by NADH. This reaction is the rate-limiting step of cholesterol biosynthesis. Variants in the *HMGCR* gene influence metabolism and transport of lipoproteins in blood plasma, as well as statin therapy efficiency. The *HMGCR* gene is found on chromosome 5q13.3-q14 and is comprised of twenty exons, encodes an 888-amino-acid protein which is widely expressed throughout the body. This study was aimed to investigate the association between polymorphism rs3846663 in the *HMGCR* gene and body mass index (BMI), and to assess levels of total cholesterol in normal weight, overweight and obese people. The study included 173 subjects. Mass-spectrometry based minisequencing method was used to determine the genotypes of polymorphism rs3846663. The study revealed a statistically significant difference in the levels of total cholesterol between overweight people and obese people. Total cholesterol levels in TT genotype individuals were 0.76 mmol/L higher than in CC genotype individuals. In T-allele carriers, total cholesterol levels were higher by 0.51 mmol/L. No association of genotypes of rs3846663 with BMI was found.

Keywords: *HMGCR*, polymorphism, simvastatin, coronary heart disease, hypercholesterolemia, rs3846663, BMI, cholesterol.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности и инвалидности не только в России, но и во всем мире. Широкое распространение этих заболеваний позволяет говорить об их эпидемии [1]. Прогнозируется, что к 2020 году смертность от ССЗ достигнет приблизительно 25 млн человек в год, из них почти половину составит смертность от ишемической болезни сердца (ИБС) [6].

Исследования последних лет показали, что своевременная и ранняя профилактика ИБС снижает рост заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [5].

Существует целый ряд факторов, влияющих на развитие и прогрессирование ИБС [2]. Один из наиболее значимых - уровень ОХ - важнейший показатель липидного обмена. Другой фактор, тесно связанный с ОХ - избыточный вес и ожирение.

На данные показатели можно повлиять, изменяя образ жизни и назначая лекарственную терапию. Помощь в этом может оказать изучение индивидуальных генетических различий, лежащих в основе развития и прогрессирования заболевания. Оценка риска и расчет предрасположенности к высокому холестерину при наличии фактора ИМТ позволят повысить эффективность ранней профилактики и терапии, так как многочисленные данные современных исследований позволяют утверждать, что медикаментозная терапия во многих случаях должна назначаться индивидуально и основываться на генетических особенностях пациента [3].

Одним из важных генов-кандидатов, исследование которого представляет интерес в прогнозировании риска развития ИБС и повышении эффективности первичной и вторичной фармакотерапевтической профилактики ИБС, является ген *HMGCR*, располагающийся на длинном плече пятой хромосомы (5q13.3-14). Данный ген кодирует один из ключевых ферментов, регулирующих синтез ХС в печени на этапе превращения 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзима А (ГМГ-КоА) в мевалоновую кислоту путем двухступенчатого восстановления за счет NADH.

Цель настоящего исследования заключалась в анализе ассоциации полиморфного варианта rs3846663 гена *HMGCR* с ИМТ у относительно здоровых людей, а также с повышенным уровнем холестерина у людей с нормальным весом и с избыточным весом/ожирением.

Материалы и методы исследования

Для проведения исследования было получено разрешение локального этического комитета при ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также добровольное информированное согласие пациентов на участие в исследовании.

Для изучения оценки распространенности и ассоциации полиморфизма rs3846663 гена *HMGCR* была обследована группа пациентов, состоящая из относительно здоровых лиц в количестве 173 человек (105 женщин, 68 мужчин), проживающих в городе Красноярске. Средний возраст составлял $49,98 \pm 0,49$ года. Критериями включения для данной группы являлись: возраст – от 40 до 65 лет, пол – мужчины и женщины, отсутствие ИБС, отсутствие острых заболеваний и хронических заболеваний в момент обострения, отсутствие тяжелых хронических заболеваний. Критериями исключения являлись: наличие ИБС, острые заболевания, хронические заболевания в стадии обострения, наличие сахарного диабета, нарушения липидного обмена, тяжелые нарушения функции печени и почек, артериальная гипертензия.

Первоначально определялся спектр липидов, что включало определение концентрации общего холестерина, ТГ, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП. Вышеперечисленные показатели определялись автоматически колориметрическим методом на приборе COBAS INTEGRA 400 plus (США).

Для генетического анализа использовался образец ДНК, выделенный из венозной крови пациента при помощи стандартного фенол-хлороформного метода. Для проведения последующих этапов молекулярно-генетических исследований использовался набор реагентов для идентификации однонуклеотидных полиморфизмов (ООО НПФ «ЛИТЕХ»). Согласно инструкции последовательно проводили реакции амплификации, дефосфорилирования и мини-секвенирования для дальнейшей идентификации полиморфизмов на времяпролетном MALDI-TOF масс-спектрометре autoflex IV (Bruker Daltonics, Германия).

Для расчёта соответствия распределения генотипов в популяционной выборке закону Харди-Вайнберга использовали программное обеспечение Hardy-Weinberg equilibrium calculator. При обработке полученного материала применялись методы вариационной статистики (программное обеспечение IBM SPSS Statistics 20).

Результаты и обсуждение

Анализ ассоциации полиморфизма с индексом массы тела проводился в несколько этапов. Первоначально был изучен индекс массы тела ($\text{кг}/\text{м}^2$) в зависимости от генотипа. Сравнение проводили со средним значением ИМТ при генотипе СС.

С нормальным генотипом СС было 45 пациентов, среднее значение ИМТ составляло 27,08. Достоверных отличий уровней ИМТ в сравнении с генотипами СТ и ТТ найдено не было. Средние значения при генотипах СТ и ТТ были 26,89 и 27,6 соответственно. При сравнении пациентов с генотипом СС и пациентов - носителей аллеля Т также достоверные отличия в средних значениях ИМТ найдены не были.

Таблица 1

Зависимость среднего значения ИМТ от генотипов полиморфизма rs3846663

Показатель	Генотип	абс.	M±m	P
ИМТ	СС	45	27,08±0,73	
	СТ	91	26,89±0,43	0,810
	ТТ	37	27,60±0,60	0,590
	СТ+ТТ	128	27,09±0,35	0,980

Примечание. Здесь и далее: P – уровень значимости различий.

Следующим этапом было формирование двух групп: ИМТ <25 (нормальный вес) и ИМТ ≥25 (избыточный/ожирение). С нормальным весом и генотипом СС было 17 человек, с генотипом СТ - 27 и с генотипом ТТ - 7 человек. В группу избыточный вес/ожирение с генотипом СС входило 28 человек, СТ – 64 человека, ТТ – 30 человек.

При сравнении генотипов СТ и ТТ с генотипом СС достоверных отличий между группами, сформированными по ИМТ, найдено не было. Также не были найдены отличия между носителями аллеля Т и нормальной гомозиготой СС.

Таблица 2

Распределение по группам ИМТ в зависимости от генотипов

Показатель		ИМТ				Общее количество пациентов	p
		Нормальный вес		Избыточный вес/ ожирение			
		абс.	%	абс.	%		
Генотипы	СС	17	37,8%	28	62,2%	45	
	СТ	27	29,7%	64	70,3%	91	0,340
	ТТ	7	18,9%	30	81,1%	37	0,080
	СТ+ТТ	34	26,6%	94	73,4%	128	0,150

Последний этап данного исследования предполагал выявление зависимости среднего уровня общего холестерина у людей с нормальным индексом массы тела или избыточным весом/ожирением и генотипами полиморфизма rs3846663. Первоначально мы проводили сравнение в группе людей с нормальным ИМТ. Данные представлены в таблице 3.

Средний уровень ОХ при генотипе СС составлял 4,95. При генотипе СТ уровень был выше на 0,49 ммоль/л, при генотипе ТТ на 0,82 ммоль/л. В случае расчета для группы СТ+ТТ среднее значение ОХ было 5,51 ммоль/л.

Таблица 3

Средний уровень общего холестерина у людей с нормальным индексом массы тела (<25) при генотипах

Показатель	Генотип	абс.	M±m	p
ОХ (ммоль/л)	СС	17	4,95±0,25	
	СТ	27	5,44±0,21	0,151
	ТТ	7	5,77±0,60	0,149
	СТ+ТТ	34	5,51±0,20	0,109

При анализе данных среднего уровня ОХ в зависимости от генотипов у людей с избыточным весом и ожирением мы получили достоверные различия при сравнении пациентов с генотипом СС с пациентами с генотипом ТТ, а также в случае сравнения с пациентами - носителями аллеля Т. Средний уровень ОХ при генотипе СС был 5,47 ммоль/л, при мутантном генотипе ТТ средний уровень ОХ был выше и составлял 6,23 ммоль/л. При сравнении нормальной гомозиготы СС с группой СТ+ТТ средний уровень ОХ был выше и составлял 5,98 ммоль/л. При сравнении значений ОХ при нормальном генотипе с гетерозиготным вариантом достоверного отличия не было.

Таблица 4

Средний уровень общего холестерина у людей с индексом массы тела ≥ 25
(избыточный/ожирение) при генотипах

Показатель	Генотип	абс.	M±m	p
ОХ (ммоль/л)	СС	28	5,47±0,16	
	СТ	64	5,86±0,15	0,132
	ТТ	30	6,23±0,24	0,015
	СТ+ТТ	94	5,98±0,12	0,050

Заключение

Перспективность изучения генетических факторов риска безусловна, поскольку это позволит прогнозировать развитие сердечно-сосудистых заболеваний с самого раннего детства, следовательно, персонифицированно и своевременно начинать применение превентивных мер. Одним из важных генов-кандидатов, исследование которого представляет интерес в прогнозировании риска развития ИБС и повышении эффективности первичной и вторичной фармакотерапевтической профилактики ИБС, является ген HMGCR.

В рамках настоящего исследования была изучена ассоциация полиморфизма rs3846663 гена HMGCR с индексом массы тела относительно здоровых людей, а также с

уровнем общего холестерина у пациентов с нормальным весом и избыточным весом/ожирением.

Полученные в ходе исследования данные позволяют сделать вывод о наличии у людей с избыточным весом и ожирением ассоциации концентрации общего холестерина с носительством мутантного аллеля Т как в гомозиготном, так и гетерозиготном варианте. В то же время в ходе нашего исследования не обнаружено ассоциации полиморфизма rs3846663 с индексом массы тела.

Все участники исследования подписывали информированное согласие. Протокол исследования соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом (выписка из протокола № 41/2012 заседания локального этического комитета ГБОУ ВПО «КрасГМУ», заседание состоялось 21.06.2012).

Список литературы

1. Беленков Ю.Н., Оганов Р.Г. Кардиология. Национальное руководство. – М. : ГЭОТАР-Медиа 2012. - 848 с
2. Бойцов С.А., Оганов Р.Г. От профилактической кардиологии к профилактике неинфекционных заболеваний в России // Российский кардиологический журнал. - 2013. - № 4. - С. 6–13.
3. Кучер А.Н. Планирование исследований по генетике многофакторных заболеваний и сложнаследуемых состояний : учебное пособие / А.Н. Кучер, под ред. В.П. Пузырева. – Новосибирск : Академиздат, 2015. - Серия «Наследственность и здоровье», выпуск 13. – 88 с.
4. Мартынович Т.В., Акимова Н.С., Федотов Э.А., Шварц Ю.Г. Полиморфизм генов, ассоциированных с развитием атеросклероза и когнитивные расстройства у пациентов с хронической сердечной недостаточностью // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2015. - № 14 (1). - С. 30-34.
5. Погосова Н.В., Оганов Р.Г., Суворов С.В. Почему в Москве смертность от сердечно-сосудистых заболеваний ниже, чем в других регионах Российской Федерации? // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2015. - № 14 (2). – С. 4–12.
6. Шальнова С.А., Конради А.О., Карпов Ю.А., Концевая А.В., Деев А.Д., Капустина А.В., Худяков М.Б., Шляхто Е.В., Бойцов С.А. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России» //

Российский кардиологический журнал. – 2012. – № 5. – С. 6-11.

7. Burkhardt R. [et al.] Common SNPs in HMGCR in micronesians and whites associated with LDL-cholesterol levels affect alternative splicing of exon13 // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2008. - № 28. - P. 2078–2084.
8. Freitas R.N. [et al.] A HMGCR polymorphism is associated with relations between blood pressure and urinary sodium and potassium ratio in the Epic-Norfolk Study / R.N. Freitas, K.T. Khaw // *J Am Soc Hypertens.* - 2009. - № 3. - P. 238-44.
9. Krauss R.M. [et al.] Variation in the 3-hydroxyl-3-methylglutaryl coenzyme a reductase gene is associated with racial differences in low-density lipoprotein cholesterol response to simvastatin treatment // *Circulation.* - 2008. - № 117:1537–1544.
10. World Health Organization: Global Database on Body Mass Index (BMI) [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
11. World Health Organization: World Health Statistics 2012 [Электронный ресурс]. – 2012. – P. 34. - Режим доступа: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/.