

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА G.-11187A>G ГЕНА *SLCO1B1* НА ТЕРАПИЮ СИМВАСТАТИНОМ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Покровский А.А.<sup>1,2</sup>, Котловский М.Ю.<sup>2</sup>, Титова Н.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, e-mail: 13th\_Apostol@mail.ru;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, e-mail: 13th\_Apostol@mail.ru

Статины – это ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А редуктазы – ключевого фермента в биосинтезе холестерина. Симвастатин – это полусинтетический статин первого поколения, который является одним из самых надежных и широко назначаемых препаратов данного класса. Он является одним из субстратов транспортера OATP1B1 гепатоцитов человека. Полиморфизмы гена *SLCO1B1*, который кодирует OATP1B1, способны оказывать влияние на перенос веществ транспортером, что может негативно сказаться на эффективности и переносимости препарата. Целью данного исследования являлось изучение влияния полиморфизма g.-11187A>G гена *SLCO1B1* на эффективность лечения симвастатином у больных ишемической болезнью сердца. Основная группа состояла из 55 человек, у которых до и после лечения определяли уровень общего холестерина, холестерина липопротеидов низкой и высокой плотности, триглицеридов. Полиморфизмы идентифицировались при помощи времяпролетного MALDI-TOF масс-спектрометра. У носителей дикого аллеля эффективность снижения уровня общего холестерина была выше на 38,7%, чем у носителей гетерозиготного варианта. Таким образом, в нашем исследовании было показано, что полиморфизм g.-11187A>G может оказывать влияние на уровень общего холестерина при терапии симвастатином.

Ключевые слова: *SLCO1B1*, полиморфизм, симвастатин, ишемическая болезнь сердца, общий холестерин.

## INFLUENCE OF POLYMORPHISM G.-11187A>G OF *SLCO1B1* GENE ON THERAPY OF SIMVASTATIN IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

Pokrovskiy A. A.<sup>1,2</sup>, Kotlovskiy M.Y.<sup>2</sup>, Titova N. M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian Federal University, Krasnoyarsk, email: 13th\_Apostol@mail.ru;

<sup>2</sup>Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, e-mail: 13th\_Apostol@mail.ru

Statins are inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, a key enzyme in cholesterol biosynthesis. Simvastatin is a first generation semi-synthetic statin that is one of the most reliable and widely prescribed drugs in its class. It is one of the substrates of the human hepatocyte OATP1B1 transporter. Polymorphisms of the *SLCO1B1* gene, which encodes OATP1B1, can affect the transport of substances by the transporter, which can negatively affect the effectiveness and tolerability of the drug. The aim of this study was to study the effect of the g.-11187A>G polymorphism of the *SLCO1B1* gene on the efficacy of simvastatin treatment in patients with coronary heart disease. The main group consisted of 55 people, whose levels of total cholesterol, low and high density lipoprotein cholesterol, triglycerides were determined before and after treatment. Polymorphisms were identified using a time-of-flight MALDI-TOF mass spectrometer. In carriers of the wild allele, the efficiency of lowering the level of total cholesterol was 38.7% higher than in carriers of the heterozygous variant. Thus, in our study, it was shown that the g.-11187A>G polymorphism can affect the level of total cholesterol during simvastatin therapy.

Keywords: *SLCO1B1*, polymorphism, simvastatin, coronary heart disease, total cholesterol.

Одним из лидеров в структуре общих причин смертности являются сердечно-сосудистые заболевания, проблема лечения которых в настоящее время полностью не решена. Согласно докладу Всемирной организации здравоохранения, в 2030 году заболевания сердца и кровеносных сосудов могут стать фатальными для 30 миллионов человек [1, с. 34]. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) обладает наибольшим приоритетом среди поражений системы кровообращения атеросклеротического генеза. Атеросклероз

встречается в 95% случаях развития ИБС, он характеризуется обширным отложением липидов, солей кальция и фиброзных волокон в интима коронарных артерий. Вторичная профилактика атеросклероза, и в частности ИБС, основана на применении медикаментозных средств, которые нормализуют уровень липидов в крови. Перспективным классом гиполипидемических средств являются статины, использование которых кардинально изменило подход к профилактике атеросклероза, оттеснив на задний план такие традиционные средства, как никотиновая кислота, ингибиторы абсорбции холестерина, фибраты, анионообменные смолы. Механизм действия статинов связан с подавлением активности ключевого фермента в биосинтезе общего холестерина (ОХ) – 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А редуктазы (ГМГ-КоА-редуктазы). Ингибируя синтез эндогенного ОХ, статины инициируют уменьшение фракции холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) из циркулирующей крови, способствуют снижению концентрации триглицеридов (ТГ) и повышению уровня холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) [2, с. 102]. За последние 20 лет было проведено множество многоцентровых клинических исследований, в ходе которых была подтверждена эффективность статинов для снижения сердечно-сосудистой и общей смертности вне зависимости от исходного уровня ОХ [3, с. 10]. Симвастатин – наиболее изученный и хорошо зарекомендовавший себя препарат данного класса. В ходе многочисленных рандомизированных клинических исследований была доказана его эффективность и безопасность. Абсорбция препарата после попадания в пищеварительную систему может достигать 85%. Далее он гидролизуется изоферментами печени (СУР3А4 и СУР3А5), в результате чего превращается в активный метаболит – β-гидроксикислоту и другие неактивные метаболиты [4]. Терапия симвастатином ведет к значительному снижению уровня ОХ, ХС ЛПНП, а также меньшему по значимости снижению уровня ТГ. Препарат хорошо переносится, в том числе и при длительном применении. Частота побочных эффектов не превышает 1-2%, среди которых преобладают диспепсические расстройства (метеоризм, тошнота, боли в животе). Тем не менее не у всех больных применение симвастатина оказывается одинаково эффективным и безопасным. Различия в фармакологическом ответе могут определяться возрастом индивидов, состоянием иммунной системы, образом жизни, принадлежностью к той или иной этнической или гендерной группе, индивидуальными особенностями метаболизма. Генетические факторы являются причиной неблагоприятных фармакологических ответов в 50-90% случаев [5, с. 2].

Исследования, посвященные генетическим полиморфизмам транспортеров, рецепторов и ферментов, встречаются довольно часто, ведь аллельные варианты генов способны оказывать негативное влияние на фармакокинетику и фармакодинамику

лекарственного средства.

Organic anion transporting polypeptide 1B1 [OATP1B1 (OATP-C)] – это специализированный белок-переносчик, локализованный на синусоидальной мембране человеческих гепатоцитов (рис. 1). Его роль заключается в переносе амфифильных органических соединений.

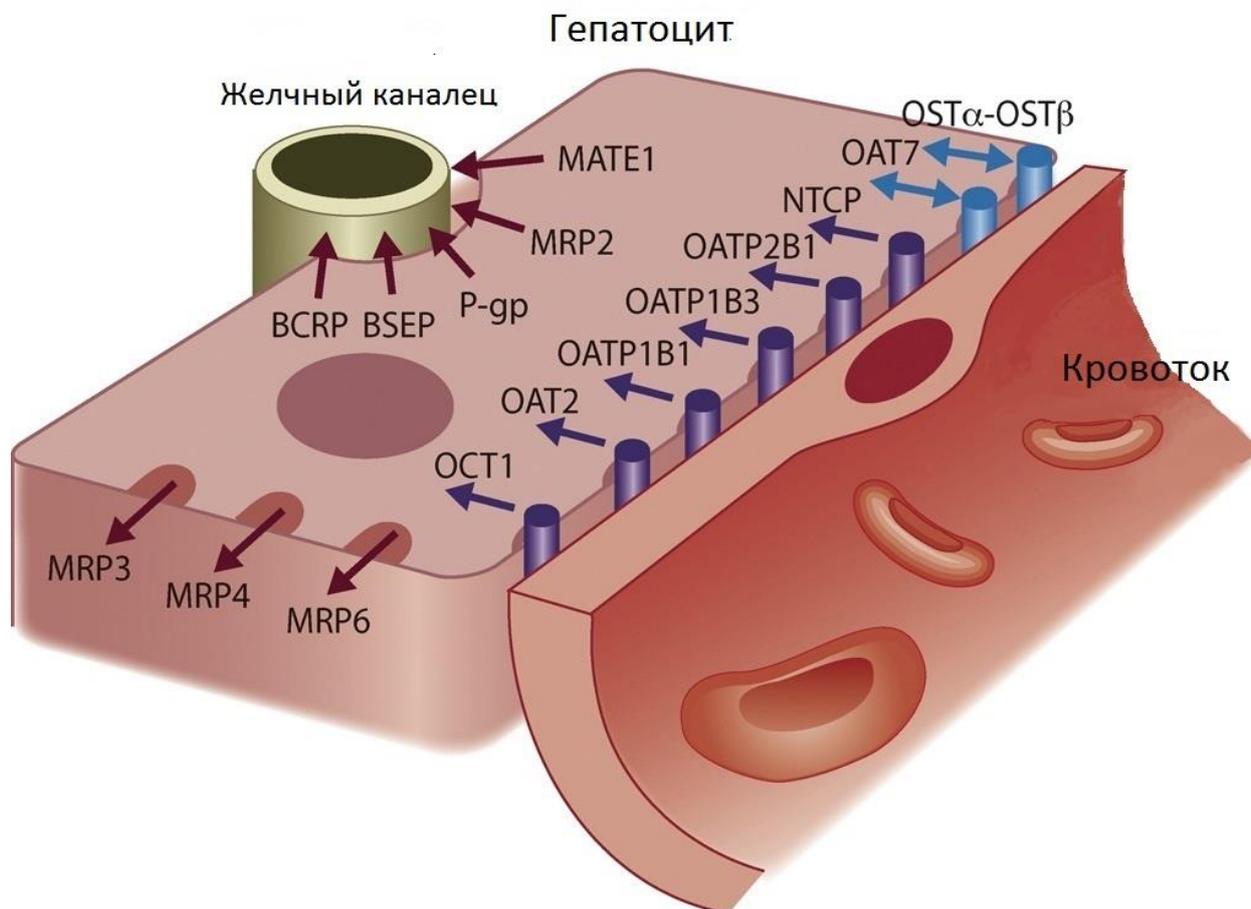


Рис. 1. Транспортёры, расположенные на синусоидальной и каналкулярной мембране гепатоцитов человека [5]

Одним из субстратов данного транспортера является симвастатин [6, с. 161]. OATP1B1 кодируется геном *SLCO1B1*, который состоит из 15 экзонов и картирован на хромосоме 12p12.2-p12.1 [7, с. 234]. Генетические полиморфизмы и гаплотипы *SLCO1B1* могут оказывать клинически значимое влияние на транспортные характеристики OATP1B1. В базу данных dbSNP на настоящий момент внесено более 50 несинонимичных полиморфизмов [8]. О влиянии однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) некодирующей области на транспортную функцию OATP1B1 известно довольно мало. Niemi M. с соавторами предполагают, что полиморфизм *g.-11187A>G* связан со снижением активности OATP1B1 [9, с. 308]. В недавнем исследовании было показано, что площадь моксифлоксацина под кривой зависимости концентрации от времени (AUC) и максимальная

концентрация, достигнутая в плазме крови ( $C_{\max}$ ), были значительно увеличены дозой препарата и генотипом варианта *g.-11187G>A*. Медиана AUC и  $C_{\max}$  моксифлоксацина у 4 пациентов (8%) с генотипом *SLCO1B1 g.-11187 AG* были выше на 46% и 30% соответственно, чем у 45 пациентов с генотипом *g.-11187 GG* [10]. Также ОНП *g.-11187A>G* и \*17 *SLCO1B1*-гаплотип (*c.11187A-388G-521C*) значительно увеличивают  $C_{\max}$  и AUC питавастатина. Отмечается, что в вариабельности фармакокинетики также большую роль играет пол. Таким образом, пациентам с гиперхолестеринемией, получающим питавастатин, необходим индивидуальный подход в фармакотерапии [11, с. 187].

Исследования, посвященные изучению влияния полиморфизмов промоторной области гена *SLCO1B1* на эффективность лечения симвастатином, отсутствуют.

Целью данного исследования явилось выявление влияния ОНП *g.-11187A>G* гена *SLCO1B1* на уровень ОХ, ХС ЛПНП и ТГ у больных ИБС при лечении симвастатином.

### **Материалы и методы исследования**

В исследовании приняло участие 55 человек (25 мужчин и 30 женщин). Средний возраст мужчин составлял  $65,8 \pm 5,9$  года, женщин –  $70,6 \pm 6,1$  года. Нами также учитывался возраст и масса тела пациентов с различными генотипами. Средний возраст носителей генотипа *g.-11187GG* составлял  $68 \pm 6,4$  года, а средняя масса тела –  $81,4 \pm 13,9$  кг. В то же время средний возраст носителей генотипа *g.-11187GA* составлял  $70,5 \pm 6,6$  года, а масса тела  $81 \pm 12,6$  кг. Критерии включения для пациентов: возраст старше 60 лет, подтвержденный диагноз ИБС (стенокардия напряжения 1-2 функционального класса), наличие дислипидемии (IIa, IIb, III, IV типов), неэффективность гиполипидемической диеты в течение 3 месяцев. Критерии исключения пациентов из исследования: стабильная стенокардия 3-4 функционального класса; инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, тромбоэмболия лёгочной артерии менее чем за 6 месяцев до обследования, острое нарушение мозгового кровообращения, тяжёлые нарушения функции печени или почек, острые состояния и хронические заболевания в стадии обострения (ожирение более I степени, сахарный диабет 1-го или 2-го типа тяжёлой степени), порфирия, миопатия, гипотиреоз, фракция выброса левого желудочка  $> 60\%$  по методике Simpson'a, повышенная активность ферментов аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) более 3 верхних пределов норм и злоупотребление алкоголем. Пациентам назначался симвастатин («СимваГЕКСАЛ®», Германия) в дозировке 40 мг/сутки. За день до начала приема симвастатина оценивался уровень ОХ, ТГ, холестерина липопротеидов низкой и высокой плотности. Повторная оценка перечисленных показателей проводилась через 2 месяца после начала приёма препарата [11, с. 48].

Эффективность снижения уровня ОХ, ХС ЛПНП и ТГ определяли путем вычисления

разницы между значением этих показателей до и спустя 2 месяца после начала лечения соответствующим препаратом [11, с. 48].

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 специальный набор 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 [11, с. 49].

В соответствии с Хельсинкской декларацией до начала всех этапов исследования было получено разрешение локального этического комитета при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также добровольное информированное согласие пациентов на участие в исследовании [11, с. 49].

Статистическую значимость различий показателей до и на фоне терапии оценивали с помощью парного критерия Вилкоксона, а между показателями независимых выборок - по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей ( $Q_1$  и  $Q_3$ ), для возраста и массы тела, соответствующих критериям нормального распределения, использовались среднее (M) и его стандартное отклонение (SD). Соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга оценивали по критерию хи-квадрат. Частоты генотипов при  $\chi^2 < 3,84$  соответствуют равновесию Харди-Вайнберга [11, с. 49]. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Генотип *SLCO1B1* *g.-11187GG* выявлен у 83,6% участников исследования (N=46), а *g.-11187GA* – у 16,4% (N=9). По распределению Харди-Вайнберга ожидаемые частоты будут таковыми: *g.-11187GG* – 84,3%, *g.-11187GA* – 15% и *g.-11187AA* – 0,7%. Значение  $\chi^2 = 0,44$ , что свидетельствует о высокой степени соответствия полученных данных распределению Харди-Вайнберга (табл. 1). Таким образом, полиморфный вариант *g.-11187A>G* обладает низким уровнем полиморфизма, что согласуется с полученными частотами в других популяциях [12].

Таблица 1

Соответствие частот аллелей полиморфизма *g.-11187A>G* гена *SLCO1B1*  
равновесию Харди-Вайнберга

Ген	Генотип	Наблюдаемая частота, %	Ожидаемая частота, %	Частота аллеля		$\chi^2$ (df=2)	P
				T	C		
SLCO1B1	ТТ	83,6	84,3	0,92	0,08	0,44	0,5
	ТС	16,4	15				
	СС	0	0,7				

Примечание: df = 2 - степень свободы для анализа частот генотипов,  $\chi^2$  – хи-квадрат, P – уровень значимости различий (уровень соответствия равновесию Харди-Вайнберга).

Согласно полученным данным, при приеме препарата статистически значимо уменьшался уровень ОХ, ХС ЛПНП и ТГ в группе носителей нормальной гомозиготы ( $p < 0,001$  по критерию Вилкоксона), а также уровень ОХ, ХС ЛПНП у носителей гетерозиготы ( $p > 0,05$  по критерию Вилкоксона). В то же время не было обнаружено статистически значимого снижения уровня ТГ у носителей гетерозиготы.

Снижение уровня ОХ было менее выражено у носителей гетерозиготы, чем у носителей нормальной гомозиготы. При этом уровень ОХ снижался на 1,17 (0,19;1,95) ммоль/л у носителей *g.-11187GA* генотипа, а у носителей *g.-11187GG* генотипа - на 1,91 (0,96;2,47) ммоль/л ( $p < 0,05$  по критерию Манна-Уитни). Таким образом, эффективность снижения уровня ОХ была выше на 38,7% у носителей нормального генотипа, чем у индивидов с гетерозиготным генотипом (рис. 2).

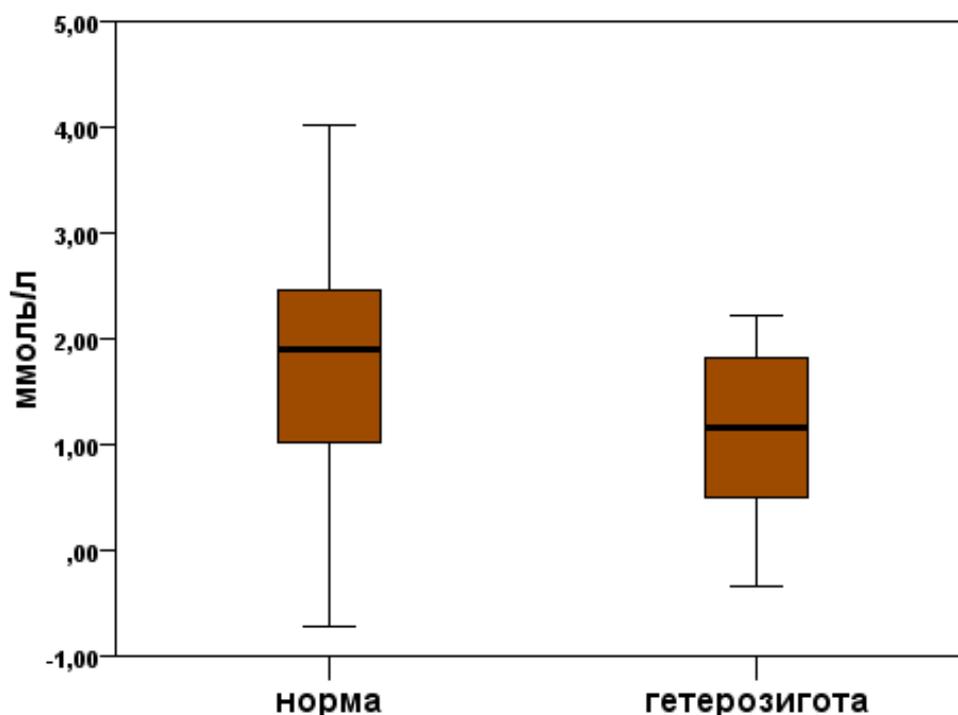


Рис. 2. Снижение уровня ОХ (ммоль/л) при лечении симвастатином в дозировке 40 мг/сутки в зависимости от генотипа *SLCO1B1* ( $p < 0,05$ )

Не было выявлено влияния полиморфизма гена *SLCO1B1* на изменчивость уровня ТГ. Снижение уровня ХС ЛПНП было также более значительно у пациентов с генотипом *g.-11187GG*, чем у пациентов с генотипом *g.-11187GA*, но полученные результаты были статистически незначимы (табл. 2). Также стоит отметить, что в нашем исследовании не было обнаружено существенных различий в эффективности лечения между генотипами GG и GA в группах мужчин и женщин.

Таблица 2

Эффективность снижения ОХ, ХС ЛПНП и ТГ за 2 месяца лечения симвастатином в дозировке 40 мг/сутки в зависимости от генотипа *SLCO1B1*

Параметр	Генотип <i>SLCO1B1</i>		P
	<i>g.-11187GG</i>	<i>g.-11187GA</i>	
	Me (Q <sub>1</sub> ;Q <sub>3</sub> )	Me (Q <sub>1</sub> ;Q <sub>3</sub> )	
<b>ОХ</b>	1,91 (0,96;2,47)	1,17 (0,19;1,95)	<0,05
<b>ХС ЛПНП</b>	1,76 (0,86;2,26)	1,32 (0,01;1,89)	>0,05
<b>ТГ</b>	0,22 (0,08;0,54)	0,22 (0,11;1,2)	>0,05

Примечание: P – уровень значимости различий, ОХ – снижение общего холестерина сыворотки крови в ммоль/л, ХС ЛПНП – снижение холестерина липопротеидов низкой плотности в ммоль/л, ТГ – снижение триглицеридов в ммоль/л, Me – медиана, Q<sub>1</sub> - 25 перцентиль, Q<sub>3</sub> – 75 перцентиль.

### Заключение

Данные исследования предполагают участие полиморфного варианта *g.-11187A>G* гена *SLCO1B1* в изменчивости уровня ОХ при лечении симвастатином у пациентов, страдающих ИБС. У больных с гетерозиготным генотипом наблюдали менее выраженное снижение уровня ОХ по сравнению с индивидами с гомозиготным генотипом GG. Однако настоящее исследование имеет ряд ограничений, включая небольшой размер исследуемой группы, использование иных препаратов при лечении, поэтому необходимо дальнейшее изучение роли указанного полиморфизма в эффективности терапии симвастатином.

### Список литературы

1. World Health Organization: World Health Statistics 2012. 2012. P. 34. [Электронный ресурс]. URL: [http://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/2012/en/](http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/) (дата обращения: 16.09.2021).
2. Калягин А.Н. Применение статинов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2008. Т. 77. № 2. С. 101-106.

3. Meyer zu Schwabedissen H., Albers M., Baumeiste S. Function-impairing polymorphisms of the hepatic uptake transporter SLCO1B1 modify the therapeutic efficacy of statins in a population-based cohort. *Pharmacogenet Genomics*. 2015. Vol. 25. no.1. P. 8-18.
4. Петров В.И., Смуцева О.Н., Соловкина Ю.В. Безопасность статинов // Вестник ВолГМУ. 2012. № 4 (44). С.9-14.
5. Stewart A. SLCO1B1 Polymorphisms and Statin-Induced Myopathy. *PLoS Curr*. 2013. Vol. 5. P.1-13.
6. Niemi M., Pasanen M.K., Neuvonen P.J. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacol. Rev.* 2011. Vol. 63, no.1 P. 157–181.
7. Brunham L.R., Lansberg P.J., Zhang L. Differential effect of the rs4149056 variant in SLCO1B1 on myopathy associated with simvastatin and atorvastatin. *Pharmacogenomics J.* 2012. Vol. 12. №3. P. 233-237.
8. База данных dbSNP. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/> (дата обращения: 11.09.2021).
9. Niemi M., Neuvonen P.J., Hofmann U. Acute effects of pravastatin on cholesterol synthesis are associated with SLCO1B1 (encoding OATP1B1) haplotype \*17. *Pharmacogenet Genomics*. 2005. Vol. 15. no.5. P.303-309.
10. Weiner M., Gelfond J., Johnson-Pais T. L., Engle M. Elevated Plasma Moxifloxacin Concentrations and SLCO1B1 g.-11187G>A Polymorphism in Adults with Pulmonary Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018. Vol. 62. №5. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5923103/pdf/e01802-17.pdf> (дата обращения: 16.09.2021).
11. Zhou Q., Chen Q.X., Ruan Z.R. CYP2C9\*3(1075A > C), ABCB1 and SLCO1B1 genetic polymorphisms and gender are determinants of inter-subject variability in pitavastatin pharmacokinetics. *Pharmazie*. 2013. Vol. 68. no.3. P. 187–194.
12. Котловский М.Ю., Покровский А.А., Оседко А.В., Оседко О.Я., Котловская О.С., Якименко А.В., Курдюк Е.В., Якимович И.Ю., Аксютина Н.В., Титова Н.М., Котловский Ю.В., Дыгай А.М. Влияние полиморфизма с.521T>C гена *SLCO1B1* на терапию симвастатином у мужчин с ишемической болезнью сердца // Молекулярная медицина. 2017. №6. С. 47-50.
13. Niemi M., Schaeffeler E., Lang T. High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide-C (OATP-C, SLCO1B1). *Pharmacogenetics*. 2004. Vol. 14. no.7. P. 429–440.