

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА E И АТЕРОСКЛЕРОЗ

Анализ полиморфизма генов играет важную роль в оценке предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям на популяционном и индивидуальном уровне. В настоящей работе было проведено определение частот аллельных вариантов гена аполипопротеина E и соответствующих генотипов в европеоидной популяции жителей г. Новосибирска. Для изученной популяции была выявлена ассоциация полиморфизма гена аполипопротеина E с обменом липидов. Также изучали полиморфизм гена аполипопротеина E (APOE): у жителей одного из районов г. Новосибирска в возрасте 25-64 года (611 человек); в группе с нефатальным инфарктом миокарда (141 человек) - жители того же района; жители того же района, перенёвшие инсульт по данным популяционного регистра инсульта; в группе с внезапной сердечной смертью (250 человек) - жители того же района; в группе долгожителей г. Новосибирска (97 человек). Анализировали уровень липидов в популяции и в группе долгожителей г. Новосибирска - в зависимости от генотипа по гену APOE. В мужской популяции с возрастом растёт доля носителей генотипа ϵ_2/ϵ_3 и уменьшается доля носителей генотипа ϵ_3/ϵ_4 . Несмотря на то, что частота генотипа ϵ_2/ϵ_3 статистически значимо выше в группах мужчин с нефатальным инфарктом миокарда и внезапной сердечной смертью. Среди лиц старческого возраста и долгожителей, как мужчин, так и женщин не выявлены носители генотипа ϵ_4/ϵ_4 по гену APOE. Наиболее высокий уровень ОХС в популяциях г. Новосибирска характерен для генотипа ϵ_4/ϵ_4 . Целесообразно внедрение массового генотипирования по данному полиморфизму гена APOE.

Ключевые слова: атеросклероз, аполипопротеин E, промотор, популяция, полиморфизм генов, внезапная смерть, инфаркт миокарда, инсульт, долгожительство, ген, популяционная частота.

М.И. Воевода^{1,2},
Е.В. Шахтшнейдер¹,
В.Н. Максимов¹,
И.В. Куликов¹,
А.Г. Ромащенко²

¹ ГУ Научно-исследовательский институт терапии СО РАМН, Новосибирск

² Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Введение

Атеросклероз широко распространен в большинстве популяций мира и является одной из ведущих причин смертности населения. Перспективы повышения эффективности ранней профилактики атеросклероза связывают с выявлением генетических маркеров предрасположенности к данному заболеванию и изучением особенностей их распространенности в различных популяциях.

Ген аполипопротеина E (APOE) активно изучается как один из наиболее известных генов, полиморфизм которого оказывает выраженное влияние на уровень липидов крови и предрасположенность к ряду сердечно-сосудистых заболеваний. Полученные на сегодня результаты свидетельствуют о специфичности связи полиморфизма в кодирующей части гена APOE с факторами риска развития атеросклероза в разных популяциях и этнических группах, что обуславливает актуальность изучения этого вопроса для конкретных этнических групп, проживающих в специфических социально-экономических и климатогеографических условиях и в том числе для различных этнических групп Западной Сибири.

Аполипопротеин E (Апо E) обеспечивает поглощение холестерина через В₂Е-рецепторы, способствует поглощению ремнантов хломикронов и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) печенью, активирует липопротеинлипазу (ЛПЛ) и липопротеинлипазу (ЛХАТ), связывает гепароиды с эндотелиальными клетками, участвует в формировании богатых эфирами холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и перераспределении липидов в тканях. Влияет на рост и репарацию нервной системы [5, 20].

Ген, кодирующий белок аполипопротеина E, расположен на 19 хромосоме. Его размер составляет 3,700 пар нуклеотидов. Ген содержит четыре экзона – области гена, кодирующие синтез белка. Ген APOE расположен вместе с генами апопротеинов С-I и С-II, а также ЛПНП-рецептора [11, 23]. Полиморфизм APOE был впервые описан Утерманном и соавторами [28]. Три аллеля - ϵ_2 , ϵ_3 и ϵ_4 наследу-

ются ко-доминантно. Благодаря существованию трех различных аллелей в соответствующем локусе, белок апо Е представлен несколькими изоформами.

В данной работе тестировался ген АРОЕ на наличие полиморфизма в позиции 3937С/Т и 4075С/Т. Эта замена азотистых оснований в ДНК определяет изменение в структуре аминокислотной последовательности белка и приводит к синтезу белка с аминокислотами цистеин или аргинин в положении 112 и 158. При этом формируются наиболее распространенные аллельные варианты: апо Е2 (Cys112, Cys158); апо Е3 (Cys112, Arg158) и апо Е4 (Arg112, Arg158) и формируемые ими генотипы: три гомозиготных ($\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 2$) и три гетерозиготных ($\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 3$). Кроме этого, нами выполнен анализ недавно выявленного полиморфизма в промоторной области гена АРОЕ (-491 А/Т). Область промотора – это предшествующая гену последовательность нуклеотидов, которую узнает фермент РНК-полимераза. Основным элементом промотора – место связывания РНК-полимеразы, которое она занимает перед началом синтеза РНК. В состав промоторов могут входить также участки связывания белков-регуляторов. По данным первых исследований этого полиморфизма, он участвует в развитии нейродегенеративных заболеваний и инфаркта миокарда [7, 18].

Частота аллелей гена АРОЕ различается в популяциях. В человеческой популяции наиболее распространен аллель $\epsilon 3$, его частота составляет от 0,60 до 0,88. [11, 15]. Частота аллеля $\epsilon 2$ подвержена значительным колебаниям, он практически не встречается у аборигенов Чукотки и Аляски [1], его относительная частота мала в популяциях Японии (0,02), коренных народов Северной Азии (0,03) и максимальна во Франции (0,14), некоторых популяциях Африки (0,09) и Новой Гвинее (0,142). Аллель $\epsilon 4$ также обладает вариабельной частотой, он редко встречается в популяции Китая (0,06), но часто в популяциях коренных жителей Северной Европы (0,23) [10, 22], Северной Азии (0,24) и некоторых популяциях Африки (0,30) [9, 30]. В отношении полиморфизма гена апоЕ -491А/Т также существуют различия в частотах аллелей между популяциями. Ввиду малого числа обследованных на сегодняшний день популяций, невозможно сделать выводы о достоверных различиях в межпопуляционной частоте аллелей полиморфизма -491А/Т. В популяциях Франции, Ирландии, Швеции и г. Новосибирска частота аллелей полиморфизма промотора гена АРОЕ -491А/Т составляет в среднем аллель А – 0,82; аллель Т – 0,18. В популяции США, Норвегии, Горной Шории частота редкого аллеля Т уменьшается и составляет около 0,15-0,16. Наиболее часто аллель Т встречается в популяции Испании – 0,25 [7, 19].

Генетический полиморфизм АРОЕ является важной предпосылкой для возникновения гиперлиппротеинемии и развития атеросклероза [29]. Аллель $\epsilon 4$ является фактором риска атеросклероза с повышенным содержанием липопротеинов низкой плотности в крови. Примерно 7% фенотипических вариаций в уровне сывороточного холестерина между индивидуумами, обусловленные в значительной степени различиями холестерина ЛПНП, связаны с полиморфизмом АРОЕ. Механизм этого влияния объясняется, по-видимому, ролью апо Е как лиганда В,Е-рецептора, а также участием этого апобелка в превращении ЛППП в ЛПНП. Выведение ремнантных частиц, содержащих апо Е2, происходит очень медленно из-за неэффективного связывания апо Е2 с соответствующими рецепторами, превращение ЛППП в ЛПНП также нарушено. Снижение вследствие этого доставки холестерина в печень приводит к увеличению синтеза В,Е-рецепторов и, соответственно, к уменьшению концентрации ЛПНП в плазме. Клиренс частиц, несущих апо Е4, напротив, идет быстрее, чем нормальных частиц, что замедляет синтез В,Е-рецепторов и в последующем увеличивает холестерин ЛПНП плазмы. Наличие аллеля $\epsilon 2$ снижает уровень липидов плазмы приблизительно на 10% по сравнению с $\epsilon 3$ гомозиготами, а присутствие аллеля $\epsilon 4$ повышает липиды плазмы на 5% по сравнению с $\epsilon 3$ гомозиготами [16]. В обзоре [11] показано, что аллель $\epsilon 4$ сопряжен с повышенным риском ИБС, по сравнению с гомозиготами по $\epsilon 3$, в то время как лица с аллелем $\epsilon 2$ имеют минимальный риск.

В исследовании, проведенном у детей в возрасте 5-14 лет (США), и затем повторно обследованных через 16 лет, отмечается более низкий рост уровня липидов крови с возрастом у лиц с $\epsilon 2$ аллелем, по сравнению с $\epsilon 4$ аллелем [26]. При обследовании долгожителей (100 лет и старше) в Финляндии выявлено статистически значимое повышение частоты аллеля $\epsilon 2$ с возрастом [13], что находит подтверждение в других исследованиях долгожителей, в том числе в Западной Сибири [6].

В исследовании пациентов с ЖКБ в Китае выявлена ассоциация аллеля $\epsilon 2$ с образованием камней в желчном пузыре. Также, выявлены различия в частоте аллелей гена APOE при образовании холестериновых или пигментных камней: частота аллеля $\epsilon 4$ достоверно выше у пациентов с холестериновыми желчными камнями [12].

Следует заметить, что не у всех людей с фенотипом apo E4 развивается выраженная гиперлиппротеинемия [8]. Вероятно, существуют и другие факторы (гормональные, средовые, пищевые), компенсирующие функциональные дефекты фенотипа apo E4. Кроме того, в популяции людей с преобладанием аллеля $\epsilon 4$ выявлена повышенная скорость синтеза apo B, хотя механизм влияния этого аллеля на экспрессию гена apo B остается неясным [25].

С функционированием аллеля $\epsilon 4$ связывают спорадическое возникновение болезни Альцгеймера [14, 17, 27]. Кроме этого, в некоторых исследованиях выявлена связь полиморфизма области промотора гена APOE -491A/T, в частности A/A генотипа с развитием нейродегенеративных заболеваний и инфаркта миокарда [19, 21]. Амилоидогенный эффект аллеля $\epsilon 4$ усиливался в присутствии аллеля A полиморфизма промотора APOE [23]. Полиморфизм промотора гена APOE -491A/T также связан с увеличением риска развития инфаркта миокарда [18]. При исследовании в течение 10 лет лиц старше 85 лет выявлена более высокая связь аллеля $\epsilon 4$ и полиморфизма промотора гена APOE с риском развития деменции, чем со смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний [19].

Материалы и методы

Первая группа, включенная в исследование, сформирована на основе материалов международного проекта ВОЗ «MONICA» в г. Новосибирске (Мониторинг заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и уровней их факторов риска). Обследована выборка жителей Октябрьского района в возрасте 25-64 лет. Численность выборки составила 603 человека, 426 мужчин и 176 женщин. Средний возраст мужчин составил $45,0 \pm 9,4$ лет, женщин – $46,2 \pm 11,6$ лет.

Вторая группа, включённая в исследование - группа пожилых и долгожителей, собиралась в ходе домашних визитов и среди пациентов домов престарелых г. Новосибирска. Всего обследовано 97 человек: 29 мужчин и 68 женщин, возраст 83 - 105 лет. Из них долгожителей (в возрасте 90 лет и старше) – 82 человека (17 мужчин и 65 женщин). Третья группа – выборка жителей Октябрьского района города Новосибирска, перенесших острый инфаркт миокарда по данным популяционного регистра инфаркта миокарда (программы ВОЗ «Регистр острого инфаркта миокарда» и «MONICA»). Четвёртая группа - жители Октябрьского района города Новосибирска, перенёвшие инсульт по данным популяционного регистра инсульта. Пятая группа - лица, умершие внезапно в Октябрьском районе г. Новосибирска в возрасте 25-64 года и подвергнутые судебно-медицинскому патологоанатомическому исследованию. Набор аутопсийного материала проводился в течение 1999-2003 гг. При секционном исследовании производился забор образцов тканей печени и миокарда в количестве 5-10 г. Образцы тканей сохраняли в замороженном виде до выделения ДНК. Общий объем группы внезапно умерших составил 467 человек, из которых 250 случаев смерти удовлетворяли соответствующим критериям ВОЗ для внезапной смерти сердечного генеза. Общая характеристика групп, включённых в исследование, приведена в таблице 1.

Обследование включало измерение артериального давления, антропометрию, исследование липидного состава крови, определение уровня глюкозы крови после стандартной углеводной нагрузки у мужчин.

Измерение артериального давления по методике ВОЗ (1980) с интервалом в пять минут. Результаты первого и второго измерений с точностью до 2 мм. рт. ст. использовались для вычисления среднего арифметического двух измерений.

Антропометрический метод: измерение массы тела проводилось при помощи медицинских рычажных весов в положении обследуемого стоя (точность измерения до 0,1 кг), измерение роста проводили в положении стоя при помощи ростомера (точность измерения – до 0,5 см). Индекс массы тела (Кетле) определяли в кг/м². Масса тела считалась нормальной при значениях ИМТ до 24,9 кг/м², избыточной – от 25 до 29,9 кг/м², ожирение регистрировали при значении ИМТ более 30 кг/м².

ТАБЛИЦА 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП ИССЛЕДОВАНИЯ

	Всего		Мужчины	Женщины	
	n	n	Средний возраст ±ст. откл.	n	Средний возраст ±ст. откл.
Лица старческого возраста и долгожители	97	29	90.6±4.7	68	92.4±3.1
Больные с инфарктом миокарда	141	105	53.5±7.5	36	58.4±6.6
Больные с инсультом	167	75	62.7±9.8	92	66.8±10.3
Внезапная сердечная смерть	250	182	53.6±7.9	68	54.2±7.3

Кровь для исследования брали минимум через 12 часов после последнего приема пищи из локтевой вены вакутейнером. Показатели липидного профиля в сыворотке крови определяли энзиматическим методом с использованием стандартных наборов «Bioson» (Германия) на биохимическом анализаторе "Labsystem FP-900" (Финляндия) в лаборатории клинической биохимии ГУ НИИ терапии СО РАМН. Исследования подвергались регулярному контролю качества в центре ВОЗ г. Прага (Чехия) и лаборатории стандартизации липидных показателей ГНИИЦ ПМ МЗ РФ. Постоянно осуществлялся внутренний контроль качества.

Индекс атерогенности (ИА) определялся по формуле: $ИА = (ОХС - ХС-ЛПВП) / ХС-ЛПВП$.

Выделение ДНК из крови проводилось по модифицированной методике фенолхлороформной экстракции (Смит и др., 1990). Генотипирование полиморфизма кодирующей части гена АРОЕ проводили с использованием методики, основанной на подходе, предложенном Nixson et al., 1990. Геномную ДНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции в стандартной реакционной смеси и далее гидролизовали рестриктазой AspLE I с сайтом распознавания GCGC. Визуализацию продуктов рестрикции проводили методом гель-электрофореза в 10% полиакриламидном геле с последующей окраской бромистым этидием и сканирования геля с помощью системы компьютерной видеосъемки.

Изучение полиморфизма промоторной области гена АРОЕ – 491А/Т проводилось на подвыборке 150 человек (средний возраст 44,4±10,4). Для генотипирования полиморфизма АРОЕ - 491А/Т была разработана оригинальная методика аллель-специфической ПЦР с использованием следующих праймеров: общий 5'-tgctcttctgtgc-ctggatga-3', аллель А 5'-tggtggccaggctggctcata-3', аллель Т 5'-tggtggccaggctggctcatt-3'. Визуализация ПЦР продукта проводилась методом гель-электрофореза в 4% полиакриламидном геле с последующей окраской бромистым этидием. Определение аллелей промотора гена АРОЕ проводили по наличию или отсутствию в геле фрагмента размером 211 п.н.

При статистическом анализе данных достоверность различий частот аллелей между популяциями и тест на соблюдение равновесия Харди-Вайнберга проводили с использованием критерия χ^2 . Оценку различий средних значений количественных показателей между разными генотипами проводили после стандартизации по полу, возрасту и индексу массы тела с помощью процедуры "GLM: univariate model" пакета прикладных статистических программ SPSS. Фиксированными переменными были генотип и пол. Форма модели дисперсионного анализа учитывала взаимодействие факторов влияния генотипа и пола. Ковариантами были выбраны возраст и индекс массы тела. Были определены средние значения, стандартная ошибка для совокупной выборки и для всех слоев по факторам, средние значения для комбинаций взаимодействий, дескриптивная статистика, дополнительный тест попарных сравнений, влияние ковариаций.

Результаты

Частота генотипов и аллелей по полиморфизму кодирующей части гена APOE в обследованных выборках, а также оценка соответствия частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга по критерию χ^2 , представлены в таблице 2. В популяции г. Новосибирска наиболее распространенным является аллель $\epsilon 3$. У мужчин в популяции г. Новосибирска выявлена тенденция снижения частоты аллеля $\epsilon 4$ с 13,1% в возрастной группе 25-44 г. до 10,2% в возрастной группе 45-64 г. и генотипов, содержащих аллель $\epsilon 4$ с 21,1% в возрастной группе 25-44 г. до 15,2% в возрастной группе 45-64 г., в старших возрастных группах и повышение частот аллеля $\epsilon 2$ с 6,1% в возрастной группе 25-44 г. до 8,4% в возрастной группе 45-64 г. и генотипов, содержащих аллель $\epsilon 2$ с 9,9% в возрастной группе 25-44 г. до 13,3% в возрастной группе 45-64 г., в старших возрастных группах. Во всех возрастных декадах сохраняется равновесие Харди-Вайнберга как у мужчин, так и у женщин.

ТАБЛИЦА 2

ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФИЗМУ В КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ ГЕНА APOE

	Новосибирск		
	Мужчины	Женщины	Оба пола
	P(sp)	P(sp)	P(sp)
Генотипы			
$\epsilon 2/\epsilon 4$	0,028 (0,008) / n=12	- / n=0	0,020 (0,006) / n=12
$\epsilon 2/\epsilon 3$	0,115 (0,016) / n=49	0,119 (0,024) / n=21	0,116 (0,013) / n=70
$\epsilon 3/\epsilon 3$	0,674 (0,023) / n=285	0,642 (0,036) / n=113	0,665 (0,019) / n=401
$\epsilon 3/\epsilon 4$	0,160 (0,018) / n=67	0,233 (0,032) / n=41	0,181 (0,016) / n=109
$\epsilon 4/\epsilon 4$	0,023 (0,007) / n=10	0,006 (0,006) / n=1	0,018 (0,005) / n=11
Аллели			
$\epsilon 2$	0,072 (0,009)	0,060 (0,013)	0,068 (0,007)
$\epsilon 3$	0,811 (0,014)	0,818 (0,023)	0,813 (0,011)
$\epsilon 4$	0,117 (0,011)	0,122 (0,017)	0,119 (0,011)
Показатели соответствия равновесию Харди-Вайнберга			
χ^2	10,936	6,207	4,793
pхв	0,02*	0,114	0,220

Примечание: здесь и далее в аналогичных таблицах P – частота, sp – ошибка частоты, n – число индивидов, χ^2 – хи-квадрат, pхв – вероятность соответствия наблюдаемого распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга.

Частоты генотипов соответствуют теоретически ожидаемым и находятся в равновесии Харди-Вайнберга при обследовании объединенной по полу группы и у женщин. У мужчин в обследованной выборке наблюдалось статистически значимое отклонение от равновесия Харди-Вайнберга. Наиболее вероятные причины этого – отличие в частоте генотипов между контрастными возрастными группами вследствие возрастного различия уровня смертности у носителей разных генотипов и изменение соотношения частот аллелей $\epsilon 4$ и $\epsilon 2$.

Результаты анализа распределения частоты генотипов и аллелей полиморфизма промотора гена APOE в исследуемых выборках представлены в таблице 3. Час-

тота более редкого аллеля Т составила 19,7%. Распределение частот генотипов в популяции соответствует равновесию Харди-Вайнберга. Статистически значимой динамики изменения частоты генотипов и аллелей в разных возрастных декадах не выявлено.

ТАБЛИЦА 3

ЧАСТОТА АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФИЗМУ ПРОМОТОРА ГЕНА АРОЕ

	Генотипы	
	P(sp)	
AA	0,627 (0,040) / n=94	
AT	0,353 (0,039) / n=53	
TT	0,020 (0,011) / n=3	
	Аллели	
A	0,803 (0,069)	
T	0,197 (0,069)	
Показатели соответствия равновесию Харди-Вайнберга		
χ^2	2,097	
P	0,201	

При анализе частоты генотипов по полиморфизму АРОЕ -491A/T у лиц носителей $\epsilon 4$ аллеля и лиц без $\epsilon 4$ аллеля статистически значимых различий не выявлено.

В популяции г. Новосибирска анализировали ассоциацию полиморфизма кодирующей части гена АРОЕ с уровнями липидов крови – общий холестерин сыворотки (ОХС), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), триглицериды (ТГ) и индексом атерогенности (ИА).

Различия в средних уровнях ОХС были статистически значимы ($p < 0,05$) при парных сравнениях между генотипом $\epsilon 4/\epsilon 4$ и генотипами $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ (Таблица 4).

ТАБЛИЦА 4

УРОВНИ ОХС (МГ/ДЛ) ДЛЯ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФИЗМУ КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ ГЕНА АРОЕ

	X(sx)	
	Мужчины n=427	Женщины n=176
$\epsilon 2/\epsilon 4$	205,1 (12,2)	-
$\epsilon 2/\epsilon 3$	199,7 (5,2)	193,3 (5,8)
$\epsilon 3/\epsilon 3$	209,4 (2,4)	202,9 (3,6)
$\epsilon 3/\epsilon 4$	204,1 (4,4)	197,7 (4,8)
$\epsilon 4/\epsilon 4$	235,1 (12,7)	228,7 (13,2)
Возраст (p)	0,000*	
ИМТ (p)	0,000*	
Пол (p)	0,111	
Генотип (p)	0,075	

Примечание: здесь и далее в аналогичных таблицах X – средняя арифметическая, стандартизованная на средние значения независимых переменных, Sx - ошибка средней арифметической, n – число индивидов, p – уровень статистической значимости данного фактора в общей факторной модели.

* – указывает на статистически значимый вклад фактора

Максимальное значение среднего уровня ОХС выявлено для генотипа $\epsilon 4/\epsilon 4$, наличие данного генотипа определяет повышение среднего уровня ОХС на 25,8 мг/дл по сравнению с генотипом $\epsilon 3/\epsilon 3$. Минимальные значения среднего уровня ОХС определяются при генотипе $\epsilon 2/\epsilon 3$. Выявлены более низкие значения среднего уровня ОХС при генотипе $\epsilon 3/\epsilon 4$ по сравнению с генотипами $\epsilon 3/\epsilon 3$ и $\epsilon 4/\epsilon 4$ как у мужчин, так и у женщин. В общей факторной модели в популяции г. Новосибирска обнаружено статистически значимое влияние возраста и ИМТ на ОХС ($p = 0,000$). В случае гиперхолестеринемии, определенной по уровню ОХС ≥ 240 мг/дл, отмечается увеличение частоты гиперхолестеринемии в ряду генотипов

ε2/ε4, ε3/ε4, ε2/ε3, ε3/ε3 и ε4/ε4 (16,7%, 16,8%, 18,8%, 21,3% и 36,4%). Однако этот эффект не достигает уровня статистической значимости.

Минимальное значение средних уровней ХС-ЛПВП в популяции г. Новосибирска определено для генотипа ε2/ε4, ε3/ε4 у мужчин и ε3/ε4 у женщин (табл. 5). Наличие данных генотипов определяет снижение среднего уровня ХС-ЛПВП на 11,0 и 6,5 мг/дл по сравнению с генотипом ε2/ε3 ($p < 0,05$), для которого в обеих половых группах регистрируется максимальный уровень ХС ЛПВП. Выявлены более высокие значения среднего уровня ХС-ЛПВП при генотипе ε4/ε4 по сравнению с генотипами ε2/ε4 и ε3/ε4 как у мужчин, так и у женщин, что, по-видимому, объясняется в целом более высокими уровнями общего холестерина сыворотки характерным для этого генотипа. В общей факторной модели в популяции г. Новосибирска обнаружено статистически значимое влияние полиморфизма кодирующей части гена АРОЕ ($p = 0,021$), пола и ИМТ ($p = 0,000$ для обоих значений) на средний уровень ХС-ЛПВП. Влияния возраста на уровень ХС-ЛПВП не выявлено.

ТАБЛИЦА 5

УРОВНИ ХС-ЛПВП (МГ/ДЛ) ДЛЯ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФИЗМУ КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ ГЕНА АРОЕ

	X(sx)	X(sx)
	Мужчины n=427	Женщины n=176
ε2/ε4	46,0 (4,5)	-
ε2/ε3	57,0 (2,0)	62,6 (2,2)
ε3/ε3	54,5 (1,0)	60,2 (1,3)
ε3/ε4	50,5 (1,6)	56,2 (1,8)
ε4/ε4	55,8 (4,7)	61,5 (4,9)
Возраст (p)	0,837	
ИМТ (p)		0,000*
Пол (p)		0,000*
Генотип (p)		0,021*

В популяции г. Новосибирска для среднего уровня ХС-ЛПВП при попарном сравнении различия были статистически значимы ($p < 0,05$) между генотипом ε2/ε3 и генотипами ε3/ε3, ε3/ε4, ε4/ε4 (табл. 6). Максимальное значение средних уровней ХС-ЛПВП определено для генотипа ε4/ε4. Наличие данного генотипа определяет повышение среднего уровня ХС-ЛПВП на 24,4 мг/дл по сравнению с генотипом ε3/ε3. Минимальные значения среднего уровня ХС-ЛПВП определяются при генотипе ε2/ε3. Выявлены более низкие значения среднего уровня ХС-ЛПВП при генотипе ε3/ε4 по сравнению с генотипами ε3/ε3 и ε4/ε4 как у мужчин, так и у женщин в возрастных группах до 44 лет, в возрастных группах старше 45 лет средний уровень ХС-ЛПВП при генотипе ε3/ε4 выше, чем при генотипе ε3/ε3. В популяции г. Новосибирска обнаружена статистически значимая ассоциация с возрастом и ИМТ для ХС-ЛПВП. Выявлено независимое влияние полиморфизма кодирующей части гена АРОЕ на средний уровень ХС-ЛПВП ($p = 0,012$). В случае повышения холестерина ЛПНП, определенному по уровню ХС-ЛПВП ≥ 160 мг/дл, отмечается увеличение частоты повышенного холестерина ЛПНП в ряду генотипов ε2/ε3, ε3/ε4, ε3/ε3, ε2/ε4 и ε4/ε4 (13,6%, 17,8%, 25,5%, 33,3% и 45,5%). Этот эффект достигает уровня статистической значимости ($p < 0,05$) при генотипе ε4/ε4 по сравнению с генотипами ε2/ε3 и ε3/ε4.

В популяции г. Новосибирска минимальное значение среднего уровня ТГ выявлено для генотипа ε3/ε3 у мужчин и женщин (Таблица 7). Максимальные значения среднего уровня ТГ определяются при генотипе ε2/ε4 и ε2/ε3. В популяции г. Новосибирска обнаружена статистически значимая связь с возрастом, полом и ИМТ для ТГ ($p < 0,005$). Независимого влияния полиморфизма кодирующей части гена АРОЕ на средний уровень ТГ не выявлено ($p = 0,351$).

ТАБЛИЦА 6

УРОВНИ ХС-ЛПНП (МГ/ДЛ) ДЛЯ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ ГЕНА АРОЕ

	X(sx)	X(sx)
	Мужчины n=427	Женщины n=176
ε2/ε4	131,6 (11,7)	-
ε2/ε3	116,5 (5,1)	109,8 (5,7)
ε3/ε3	132,4 (2,4)	125,7 (3,5)
ε3/ε4	129,9 (4,2)	123,2 (4,7)
ε4/ε4	155,2 (12,2)	148,6 (12,8)
Возраст (p)		0,000*
ИМТ (p)		0,001*
Пол (p)		0,090
Генотип (p)		0,012*

ТАБЛИЦА 7

УРОВНИ ТГ (МГ/ДЛ) ДЛЯ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ ГЕНА АРОЕ

	X(sx)	X(sx)
	Мужчины n=427	Женщины n=176
ε2/ε4	137,3 (17,6)	-
ε2/ε3	128,8 (7,5)	101,6 (8,5)
ε3/ε3	114,8 (3,5)	87,6 (5,2)
ε3/ε4	118,9 (6,3)	91,7 (7,0)
ε4/ε4	120,3 (18,4)	93,2 (19,2)
Возраст (p)		0,004*
ИМТ (p)		0,000*
Пол (p)		0,000*
Генотип (p)		0,351

В популяции г. Новосибирска средние значения индекса атерогенности минимальны у мужчин и женщин с генотипами ε2/ε3 (Таблица 8). В случае генотипов, содержащих аллель ε4 наблюдаются более высокие средние значения ИА, как у мужчин, так и у женщин. Выявлено статистически значимое влияние полиморфизма кодирующей части гена АРОЕ, пола, возраста и ИМТ на значения ИА ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 8

ЗНАЧЕНИЯ ИА (ЕД.) ДЛЯ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ ГЕНА АРОЕ

	X(sx)	X(sx)
	Мужчины n=427	Женщины n=176
ε2/ε4	3,7±0,4	-
ε2/ε3	2,8±0,2	2,2±0,2
ε3/ε3	3,1±0,1	2,5±0,1
ε3/ε4	3,3±0,1	2,7±0,2
ε4/ε4	3,8±0,4	3,2±0,4
Возраст (p)	0,006*	
ИМТ (p)	0,000*	
Пол (p)	0,000*	
Генотип (p)	0,027*	

В изученной популяции во всех возрастных группах, как у мужчин, так и у женщин, не выявлено связи полиморфизма промотора гена АРОЕ с уровнями липидов крови.

Целью нашего исследования было также оценить ассоциацию полиморфизма гена аполипопротеина Е с некоторыми сердечно-сосудистыми заболеваниями и их факторами риска в популяции Новосибирска. По данным эпидемиологических обследований на каждую 1000 мужчин в возрасте старше 40 лет возникает от 2.6 до 15.9 случаев инфаркта миокарда в течение одного года. В г. Новосибирске по данным регистра инфаркта миокарда (программа ВОЗ «MONICA») в 1996 г. заболеваемость им у мужчин в возрасте 55-64 лет составила 16.9 случаев на 1000 человек, а смертность 526.1 на 100 000 человек [4].

При выборе гена и групп для анализа исходили из следующих предпосылок: в случае состояний (признаков), относящихся к категории мультифакториальных, знание продукта гена, влияния полиморфизма этого гена на функциональные свойства белка даёт сугубо теоретическое представление о возможных последствиях носительства отдельных генотипов. Многое определяется, как ближайшим окружением гена, так и свойствами функциональной системы, в которой он работает. Это в свою очередь, в значительной мере определяется генофондом популяции и условиями жизни данной популяции. Генотип «полезный» в одном генном окружении, может быть «вреден» - в другом. Это касается и внешних условий: генотип, «хороший» в одних условиях, может быть «плох» – в других. Часто аналогично меняется значение генотипов в течение жизни индивидуума. Всё это диктует необходимость всестороннего изучения функционального значения каждого полиморфизма, в частности через анализ возрастной динамики частот генотипов, проверку его ассоциации с различными состояниями

Применение такого подхода основано на возможности реального наблюдения за изменениями в популяции частот генотипов в различные возрастные периоды. Известно, что в стационарной популяции при отсутствии существенной миграции происходит изменение частот генотипов с возрастом преимущественно за счет дифференцированного уровня смертности у лиц, имеющих определённые генотипы. Доказано, что у людей существуют варианты различий в предрасположенности к заболеваниям с летальными исходами.

Учитывая тот факт, что отдельные аллельные варианты АРОЕ во всех европеоидных популяциях ассоциированы с сердечно-сосудистыми, цереброваскулярными и нейродегенеративными заболеваниями, распространённость которых в России особенно высока, был выполнен анализ возрастной динамики частот генотипов. В младших возрастных группах, которые ещё не дожили до фатальных проявлений основной части сердечно-сосудистых заболеваний, полученные оценки уровня полиморфизма являются реально передающимися по наследству. Частоты генотипов в обследованной выборке приведены в таблице 9.

Вероятнее всего до 45-летнего возраста селектирующие факторы не оказывают существенного влияния на структуру генофонда рассмотренной популяции по данному полиморфизму.

В возрастном интервале 25-64 года существует тенденция к накоплению генотипа ϵ_2/ϵ_3 и снижению генотипа ϵ_3/ϵ_4 у мужчин, не достигающая уровня статистической значимости. Но при сравнении мужчин 35-44 лет с мужчинами в возрасте 84 г. и старше оказалось, что доля носителей генотипа ϵ_2/ϵ_3 увеличивается в 2.6 раза – с 8.3 % до 21.7 % ($p=0,046$) рис. 1. У женщин изменения частоты этого генотипа с возрастом не имеют чёткой тенденции. У мужчин с возрастом снижается доля носителей генотипа ϵ_3/ϵ_4 , у женщин изменения разнонаправленные.

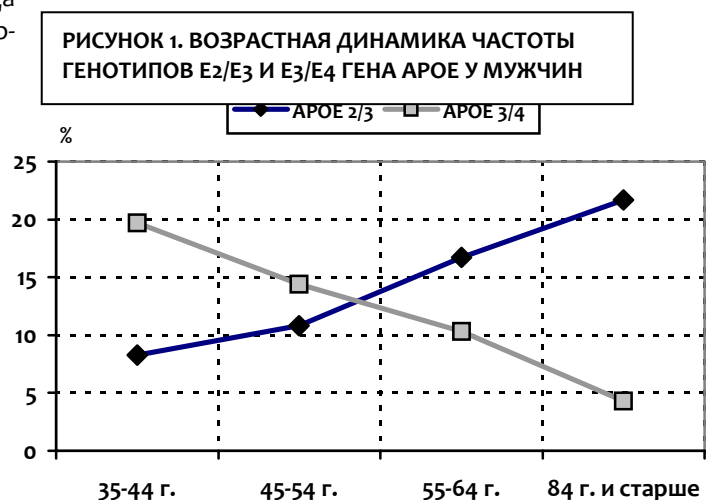


ТАБЛИЦА 9

ЧАСТОТА ГЕНОТИПОВ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА Е В РАЗЛИЧНЫХ ВЫБОРКАХ

	Генотипы				
	ε2/ε3	ε2/ε4	ε3/ε3	ε3/ε4	ε4/ε4
Популяционные выборки					
Мужчины 25-34 г. n=58	13.8	5.2	65.5	13.8	1.7
Мужчины 35-44 г. n=157	8.3	1.3	67.5	19.7	3.2
Мужчины 45-54 г. n=139	10.8	3.6	70.5	14.4	0.7
Мужчины 55-64 г. n=78	16.7	3.8	64.1	10.3	5.1
Женщины 25-34 г. n=38	7.9		57.9	34.2	
Женщины 35-44 г. n=38	15.8		71.1	13.2	
Женщины 45-54 г. n=48	10.4		60.4	27.1	2.1
Женщины 55-64 г. n=51	13.7		66.7	19.6	
Лица старческого возраста и долгожители					
Мужчины 84-89 г. n=23	21.7		73.9	4.3	
Мужчины 90-105 лет n=13	23.1		69.2	7.7	
Женщины 83-94 г. n=56	17.9		64.3	17.9	
Женщины 95-105 лет n=15	13.3		73.3	13.3	
Больные с инфарктом миокарда					
Мужчины n=92	20.7	3.3	57.6	17.4	1.1
Женщины n=32	18.8	3.1	68.8	9.4	
Больные с инсультом					
Мужчины n=63	14.3	3.2	58.7	22.2	1.6
Женщины n=78	6.4	3.8	67.9	19.2	2.6
Внезапная сердечная смерть					
Мужчины n=128	18.8	2.3	58.6	18.8	1.6
Женщины n=49	14.3		77.6	8.2	

При сравнении частоты генотипов гена АРОЕ в популяции с частотой в группе больных с инфарктом миокарда (ИМ) выявлено повышение доли генотипа ε2/ε3 у больных мужчин (p=0.015). Достоверное увеличение доли носителей генотипа ε2/ε3 обнаружено и в группе с внезапной сердечной смертью (ВСС) (p=0.026). В популяции с возрастом, как уже отмечалось выше, доля носителей генотипа ε2/ε3 растёт, несмотря на повышение их частоты в группе больных с ИМ и среди умерших ВСС. В группе женщин, перенёвших ИМ, также как и у мужчин повышена доля носителей генотипа ε2/ε3. Однако в группе женщин с ВСС доля лиц с генотипом ε2/ε3 не отличается от популяции. У женщин с инсультами генотип ε2/ε3 встречается в 2 раза реже, чем в популяции 12 % и 6 % соответственно. Частота генотипа ε3/ε4 у мужчин с ИМ, инсультом, ВСС не отличается от средне популяционной, но если сравнить эти группы больных с сопоставимой по возрасту популяционной, то оказывается что у больных мужчин доля этого генотипа выше. У больных с инсультом она достигает 22.2%. У больных ИМ и умерших ВСС женщин наоборот частота генотипа ε3/ε4 в 2 раза ниже, чем в популяции. Тогда как в группе женщин, перенёвших инсульт, частота не отличается от популяционной.

Возможно у мужчин Новосибирска носителей генотипа ε2/ε3 гена АРОЕ в 2 раза выше риск развития инфаркта миокарда или внезапной сердечной смерти, но если ни первого, ни второго не произошло, то они могут стать долгожителями. Если в популяции 25-64 летних мужчин, примерно каждый десятый является носителем этого генотипа, то среди геронтов – каждый пятый. Мужчины-носители генотипа ε3/ε3 несколько реже попадают в группу внезапно умерших (58.6 %, против 67.7 % в популяции). Женщины-носительницы генотипа ε3/ε3 примерно с одинаковой частотой представлены во всех обследованных выборках.

ТАБЛИЦА 10

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АРОЕ И КОЛИЧЕСТВО АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК В КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЯХ ПО ДАННЫМ АУТОПСИИ

АРОЕ	Нет бляшек		Единичные бляшки		Среднее количество бляшек		Множество бляшек	
ε2/ε3	2	9,1%	5	22,7%	4	18,2%	11	50,0%
ε3/ε3	8	9,8%	2	2,4%	20	24,4%	52	63,4%
ε3/ε4	3	13,6%	4	18,2%	10	45,5%	5	22,7%
ε2/ε4	0	,0%	0	,0%	0	,0%	2	100,0%
ε4/ε4	0	,0%	0	,0%	1	50,0%	1	50,0%

Кроме того, при анализе результатов аутопсии лиц умерших ВСС оказалось, что носители разных генотипов гена АРОЕ достоверно отличались по количеству бляшек в коронарных артериях, таблица 10 ($p=0.022$, по таблицам сопряженности с использованием критерия χ^2). При сравнении толщины стенки левого желудочка в разных генотипических классах с помощью однофакторного дисперсионного анализа показано, что она увеличивается в ряду генотипов $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 4$ ($p=0.014$).

Проблема старения и сохранения активной старости является актуальной для современного общества. Это обусловлено с одной стороны снижением средней продолжительности жизни в целом, а с другой - ростом удельного веса пожилых людей в мире и России. Поэтому сохранение здоровья населения старших возрастных групп и обеспечение активного долголетия является одной из задач современной медицинской науки [4]. Согласно докладу Всемирного банка (1996), общее сокращение продолжительности жизни связано, прежде всего, с ростом смертности среди людей среднего возраста (30-50 лет). Основной причиной заболеваемости и смертности среди взрослого населения является сердечно-сосудистая патология [3]. По этой причине важным элементом настоящего исследования является оценка полиморфизма гена АРОЕ у долгожителей. Долгожители несут в себе уникальный потенциал наследственного здоровья, сохраненного в условиях современного образа жизни. В этой связи молекулярно-генетические исследования среди этой группы людей, с учетом природно-географических, социальных и экологических факторов представляют интерес, как в научном, так и в прикладном аспекте. Фактически долгожители - это золотой стандарт, окончательный, проверенный временем вывод, о роли тех генотипов, носителями, которых они являются, самим своим существованием доказывая их значимость.

Среди долгожителей отсутствуют носители генотипов $\epsilon 2/\epsilon 4$ и $\epsilon 4/\epsilon 4$. Доля генотипа $\epsilon 3/\epsilon 4$ у мужчин старше 84 лет по сравнению с популяций меньше в 4 раза. Это может объясняться неблагоприятным липидным профилем, часто имеющимся у носителей этих генотипов, что показано в настоящем исследовании и согласуется с данными полученными на других популяциях. Атеросклероз с его осложнениями, приводит к выбыванию носителей этих генотипов из популяции в возрастном интервале от 65 до 83 лет. И наоборот, наличие генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$, сопровождающееся более благоприятным липидным профилем, повышает шансы его носителей стать долгожителями. У женщин статистически значимой возрастной динамики частот генотипов гена АРОЕ не выявлено.

При оценке уровня липидов крови у лиц старческого возраста и долгожителей в зависимости от генотипа гена АРОЕ оказалось, что средний уровень общего холестерина у женщин-носительниц генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$ был ниже, чем у женщин-носительниц генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ и $\epsilon 3/\epsilon 4$ (таблица 11). Кроме этого, как в общей группе этого контингента обследованных (без разделения по полу), так и в группе только женщин, средний уровень холестерина ЛПВП у носителей генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$ был статистически значимо выше, чем у носителей генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$. По уровню триглицеридов статистически значимых различий между носителями разных генотипов не выявлено. При сравнении уровня липидов у мужчин и женщин носителей одинаковых генотипов гена АРОЕ обнаружено, что уровень общего холестерина был выше у мужчин - носителей генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$, чем у женщин. У мужчин-

носителей генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ уровень общего холестерина был существенно ниже, чем у женщин - носительниц того же генотипа. Женщины, носительницы генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$, имели более высокие уровни холестерина ЛПВП, чем у мужчины - носители того же генотипа. В то же время у носителей генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ в разных половых группах отсутствовали отличия в среднем уровне холестерина ЛПВП. У носителей генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$ в разных половых группах отличия отсутствовали, тогда как у женщин-носительниц генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ средний уровень триглицеридов был статистически значимо выше, чем у мужчин-носителей того же генотипа ($p=0.023$). Таким образом, в целом, особенности липидного обмена были более благоприятными у женщин-носительниц генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$ - с относительно низким средним уровнем общего холестерина при относительно высоком уровне холестерина ЛПВП и умеренном - триглицеридов. Индекс атерогенности у женщин-носительниц генотипа $\epsilon 2/\epsilon 3$ достоверно ниже, чем у носительниц двух других генотипов. При сравнении уровней липидов в популяции и у геронтов в аналогичных генотипических классах гена APOE оказалось, что у доживителей во всех генотипических классах ниже, как общий холестерин, так и холестерин липопротеидов высокой плотности.

ТАБЛИЦА 11

ГЕНОТИПЫ APOE И УРОВЕНЬ ЛИПИДОВ У ЛИЦ СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА И ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ

APOE	ОХС (мг/дл)		ХС-ЛПВП (мг/дл)		ТГ (мг/дл)	
	Среднее	Ст. отклонение	Среднее	Ст. отклонение	Среднее	Ст. отклонение
Мужчины						
$\epsilon 2/\epsilon 3$	168,6400	22,53870	33,0200	7,80718	92,2000	41,30563
$\epsilon 3/\epsilon 3$	154,2308	51,13494	30,9846	9,67065	78,3692	41,99941
$\epsilon 3/\epsilon 4$	182,1000	.	34,9000	.	70,8000	.
Женщины						
$\epsilon 3/\epsilon 3$	157,1444	24,37366	41,0444	13,76418	101,7556	35,99094
$\epsilon 3/\epsilon 3$	179,8767	49,33293	31,1580	11,50176	110,4767	40,28592
$\epsilon 3/\epsilon 4$	182,8444	32,88039	31,5556	10,63874	106,0889	53,20476

Обращает на себя внимание следующий факт. Среди лиц преклонного возраста и долгожителей, как мужчин, так и женщин отсутствовали носители генотипа $\epsilon 4/\epsilon 4$, что отчасти можно объяснить предрасположенностью этих лиц к развитию болезни Альцгеймера. Согласно данным исследования, выполненного на новосибирской популяции [2], частота генотипа $\epsilon 4/\epsilon 4$ у лиц с болезнью Альцгеймера в 2,5 раза превышала частоту гомозигот в контрольной группе. Кроме этого, частота генотипа $\epsilon 3/\epsilon 4$ у лиц с болезнью Альцгеймера также более чем в 1,5 раза превышала частоту носителей этого генотипа в контрольной группе. Следовательно, можно предположить, что значительное снижение доли носителей этого генотипа среди лиц старческого возраста и долгожителей по сравнению с популяцией было связано не только с наличием атеросклероза и его осложнениями, но и в определенной мере с болезнью Альцгеймера. Болезнь Альцгеймера поражает приблизительно 5 – 7 % лиц в возрасте 65 лет и старше. В настоящее время она стоит на четвертом месте по смертности в промышленно развитых странах Запада. Болезнь Альцгеймера является причиной деменции по меньшей мере в 50 % случаев. А у больных с болезнью Альцгеймера показана связь между тяжелой деменцией и наличием аллеля $\epsilon 4$.

Заключение

В результате проведенного исследования в популяции мужчин г. Новосибирска выявлена тенденция снижения частоты аллеля $\epsilon 4$ и генотипов, содержащих аллель $\epsilon 4$, и повышение частот аллеля $\epsilon 2$ и генотипов, содержащих аллель $\epsilon 2$, в старших возрастных группах. В обследованной популяции частота более редкого аллеля Т полиморфизма промотора гена APOE была близка к частоте аллелей, отмечаемой в популяциях Франции, Ирландии, Швеции.

В сопоставлении данной популяции с популяциями различных регионов Земного шара распределение частоты аллелей и генотипов полиморфизма гена APOE популяции г. Новосибирска близко к наблюдаемому в европеоидных популяциях Западной Европы. Распределение частоты аллеля $\epsilon 4$ в различных этнических группах сформировано, по-видимому, механизмами адаптации к условиям внешней среды. По данным Fullerton S. et al. 2000, аллель $\epsilon 4$ является наиболее ранним эволюционным вариантом. Популяции, сохраняющие до последнего времени уклад жизни охотников-собирателей и обладающие более высокой частотой $\epsilon 4$ обладают оптимальным адаптационным потенциалом в условиях нерегулярного поступления пищевых продуктов. В популяциях с современным типом питания, регулярным поступлением пищевых продуктов наблюдается более высокая частота аллеля $\epsilon 2$, эволюционно наиболее молодого варианта полиморфизма кодирующей части гена APOE. Существует предположение, что распространение данного аллеля коррелирует с возникновением первичных центров земледелия в мире (Воевода М.И., 2001).

В нашем исследовании обнаружена достоверная ассоциация между генотипами полиморфизма кодирующей части гена APOE и некоторыми факторами риска атеросклероза.

В популяции г. Новосибирска выявлено повышение средних уровней ОХС и ХС-ЛПНП для генотипа $\epsilon 4/\epsilon 4$, повышение среднего уровня триглицеридов в случае генотипов, содержащих аллель $\epsilon 2$ и снижение среднего уровня ХС-ЛПВП в случае генотипов $\epsilon 2/\epsilon 4$ и $\epsilon 3/\epsilon 4$.

Подобный характер ассоциации уровней липидов крови с изученным полиморфизмом ранее был отмечен для ряда популяций в исследованиях Eichner J. 2002, Wilson P. 1994, de Knijff P. 1994. Популяция г. Новосибирска отличается от популяций Западной Европы более низким средним уровнем ОХС при генотипе $\epsilon 3/\epsilon 4$ по сравнению с генотипом $\epsilon 3/\epsilon 3$, но данные различия не являются статистически значимыми. В изученной популяции не выявлено ассоциации полиморфизма промотора гена APOE с уровнями липидов крови. По-видимому, роль этого полиморфизма в изменении липидного спектра крови незначительна в отличие от его влияния на развитие нейро-дегенеративных заболеваний.

Выявленная ассоциация полиморфизма гена APOE с факторами риска атеросклероза подтверждает перспективность изучения полиморфизма генов и создание программ профилактики атеросклероза с учетом данных генотипирования по полиморфизму кодирующей части гена APOE для оценки индивидуального риска развития атеросклероза.

Особенность настоящего исследования заключается в том, что вся работа по генотипированию всех вышеперечисленных групп выполнена в одной лаборатории по стандартной методике. Группы сформированы из представителей одной популяции, что автоматически исключает межпопуляционные различия, которые затрудняют оценку функциональной значимости изучаемого полиморфизма.

Таким образом, особенности полиморфизма APOE вероятно не являются определяющими детерминантами высокого уровня распространенности и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в европеоидной популяции России, но они вносят свой вклад, который не всегда можно выявить в рамках подхода основанного на изучении отдельных генов. Современные достижения биоинформатики в области компьютерного моделирования генных сетей показывают, насколько трудна задача по изучению такой сложной системы как человек. Один признак - это продукт функционирования определенной генной сети. Функционирование любого гена осуществляется в ансамбле координировано работающих и взаимно регулируемых генов, обеспечивающих выполнение определенной функции организма.

Как известно, первичная профилактика заболеваний намного эффективней вторичной, но для её проведения необходимо сформировать группы повышенного риска заболевания. Одним из важных критериев при формировании таких групп, безусловно, является семейный анамнез. При этом в каждой семье важно выяв-

лять лиц с наиболее высоким риском развития заболевания и ведущие факторы риска. Исследования молекулярно-генетических маркеров наследственной предрасположенности позволяют решить эту задачу и сделать первичную профилактику индивидуальной, целенаправленной, патогенетически обоснованной, эффективной и более дешёвой.

Таким образом, генотипирование по гену АРОЕ может быть использовано для:

выявления среди родственников больных - лиц с повышенным риском развития: нарушений липидного обмена, болезни Альцгеймера, инфаркта миокарда, инсульта, ишемической цереброваскулярной болезни;

выявления среди больных с болезнью Альцгеймера - лиц с повышенным риском развития тяжёлой деменции;

выявления среди больных с серьёзными тупыми травмами головы

а) лиц с повышенным риском развития более чем 7 дневного бессознательного состояния – и внесения изменений в план ведения таких больных,

б) лиц с повышенным риском наличия остаточной неврологической симптоматики спустя 6 месяцев после черепно-мозговой травмы – и внесения изменений в план ведения таких больных,

в) лиц с повышенным риском развития болезни Альцгеймера;

выявления среди больных с повышенными уровнями общего ХС, ХС-ЛПНП и пониженным содержанием ХС-ЛПВП носителей аллеля $\epsilon 4$ с последующей коррекцией проводимой терапии;

выявления среди больных с сахарным диабетом 2-го типа лиц имеющих высокий риск развития диабетической нефропатии и ретинопатии;

исключения назначения эстрогенов с целью уменьшить потери когнитивных способностей женщинам, носительницам $\epsilon 4$ аллеля;

Молекулярно-генетические исследования мультифакториальных заболеваний представляют собой задачу значительной сложности. Несмотря на то, что программа «Геном человека» завершена, мы не намного продвинулись от начала пути. Даже по тем генам, для которых известен продукт гена и его функции, информации явно недостаточно. Функциональное значение разных аллелей одного гена существенно отличается в разных климатических, экологических условиях, зависит от характера питания, возраста, пола, этнической принадлежности (окружения гена). Только изучение полиморфизма отдельного гена в разных этнических, половых, возрастных группах, а также поиск ассоциаций с широким спектром состояний: смерть, болезнь, здоровье, долголетие - позволит составить наиболее полное представление об этом гене и, следовательно, о возможных способах и последствиях воздействия на него.

Литература:

Воевода М.И., Устинов С.Н., Куликов И.В. и др. Некоторые молекулярно-генетические аспекты атерогенеза в этнических группах Сибири. В: Сборник трудов юбилейной научной сессии НИИ терапии СО РАМН 2002. 45-50.

Короленко Ц.П., Виноградова Т.Е., Воевода М.И. и др. Молекулярно-генетические факторы риска болезни Альцгеймера. Журнал неврологии и психиатрии им. Корсакова 2001; 1: 65-68.

Никитин Ю.П., Малютин С.К., Симонова Г.И. и др. Сердечно-сосудистые заболевания в Сибири: 10-летние тренды и определяющие факторы (Сибирская МОНИКА). В: кн. Диагностика, лечение и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний. Новосибирск 1996. 103-104.

Оганов Р.Г. Первичная профилактика ИБС. М: Медицина; 1990.

Титова Г.И., Ключева Н.Н., Кожевникова К.А., Климов А.Н. Взаимодействие холестерина с апопротеином Е – аргининбогатым белком липопротеинов очень низкой плотности. Биохимия 1980; 45: 51-55.

Шабалин А.В., Максимов В.Н., Долгих М.М. и др. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента и гена аполипопротеина Е у долгожителей города Новосибирска. Успехи геронтологии 2003;12: 77-81.

Bullido M. J., Artiga M.J., Recuero M., Sastre I. et al. A polymorphism in the regulatory region of APOE associated with risk for Alzheimer's dementia. Nature genetics 1998; 18: 69-71.

- Corbo R.M., Scacchi R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world: is APOE*4 a "thrifty" allele? *Ann. Hum. Genet.* 1999; 63: 301-310.
- Corbo R.M., Scacchi R., Rickards O. et al. An investigation of human apolipoproteins B and E polymorphisms in two African populations from Ethiopia and Benin. *Am. J. Human. Biol.* 1999; 11(3): 297-304.
- Corella D., Guillen M., Saiz C. et al. Associations of LPL and APOC3 gene polymorphisms on plasma lipids in a Mediterranean population: interaction with tobacco smoking and the APOE locus. *J. Lipid Res.* 2002; 43: 416-427.
- Davignon J., Gregg R.E., Sing C.F. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 1-21.
- van Erpecum K.J., Portincasa P., Dohlu M.H. et al. Biliary pronucleating proteins and apolipoprotein E in cholesterol and pigment stone patients. *J. Hepatol* 2003; 39 (1): 7-11.
- Frononi G.B., Louhija J., Geroldi C., Trabucchi M. Longevity and the $\epsilon 2$ Allele of Apolipoprotein E: The Finnish Centenarians Study. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2001; 56(2); 75 - 78.
- Hofman A., Ott A., Breteler M.M.B. et al. Atherosclerosis, apolipoprotein E and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam study. *Lancet* 1997; 349; 151-154.
- Jaramillo-Correa J P., Keyex G., Ruiz-Garcia M. et al. Population genetic analysis of the genes APOE, APOB (3'VNTR) and ACE in some black and amerindian communities from Columbia. *Hum. Hered.* 2001; 52: 14-33.
- Ilveskoski E., Perola M., Lehtimaki T. et al. Age-Dependent Association of Apolipoprotein E Genotype With Coronary and Aortic Atherosclerosis in Middle-Aged Men: An Autopsy Study. *Circulation* 1999; 100: 608-613.
- Kukull W., Martin G.M. APO E Polymorphisms and Late-Onset Alzheimer Disease. *JAMA* 1998; 279(10): 788-789.
- Lambert J-C., Brousseau T., Defoss V., et al. Independent association of an APOE gene promoter polymorphism with increased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations – the ECTIM Study. *Hum. Mol. Genet* 2000; 9(1): 57-61.
- Lambert J-C., Mann D., Goumidi L., Harris J. et al. Effect of the APOE promoter polymorphisms on cerebral amyloid peptide deposition in Alzheimer's disease. *Lancet* 2001; 357: 608-609.
- Larson I.A., Ordovas J.M., DeLuca C. et al. Association of apolipoprotein E genotype with plasma apo E levels. *Atherosclerosis* 1999; 148(2).
- Laws S. M., Hone E., Taddei K., et al. Variation at the APOE 491 promoter locus is associated with altered brain levels of apolipoprotein E. *Molecular Psychiatry* 2002; 7: 886–890.
- Lucotte G., Loirat F., Hazout S. Pattern of gradient of apolipoprotein E allele *4 frequencies in Western Europe. *Hum. Biol.* 1997; 69: 253–262.
- Pahnke J., Walker L.C., Schroeder E., et al. Cerebral β -amyloid deposition is augmented by the -491AA promoter polymorphism in non-demented elderly individuals bearing the apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele. *Acta Neuro-pathol* 2003; 105: 25-29.
- Paik Y-K., Chang D.J., Reardon C.A., et al. Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989; 82: 3445-3449.
- Reardon C.A. Differential metabolism of apolipoprotein E isoproteins. *J. Lab. Clin. Med* 2002; 140(5): 301-302.
- Srinivasan S.R., Ehnholm C., Elkasabany A., Berenson G. Influence of apolipoprotein E polymorphism on serum lipids and lipoprotein changes from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis* 1999; 143: 435-443.
- Strittmatter W., Saunders A., Schmechel D. et al. Apolipoprotein E: High avidity binding to β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1993; 90: 1977-1981.
- Utermann G., Hess M., Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinemia in man. *Nature* 1977; 269: 604-607.
- Xhignesse M., Lussier-Cacan S., Sing C.F. et al. Influences of common variants of apolipoprotein E on measures of lipid metabolism in a sample selected for health. *Arterioscler. Thromb* 1991; 11: 1100-1110.
- Zekraoui L., Lagarde J.P., Raisonnier A. et al. High frequency of the apolipoprotein E *4 allele in African pygmies and most of the African populations in sub-Saharan Africa. *Hum. Biol* 1997; 69: 575-581.

POLYMORPHISM OF APOLIPOPROTEIN E GENE AND ATHEROSCLEROSIS

M.I. Voevoda^{1,2}, E.V. Schakhtschneider¹, V.N. Maximov¹, I.V. Kulikov¹, A.G. Romaschenko²

¹ Institute of Internal Medicine SB RAMS, Novosibirsk

² Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk

ABSTRACT: Polymorphism genes assay is of importance for estimation of predisposition to multifactorial diseases on population and individual level. We investigated apolipoprotein E polymorphism and its influence on a lipid metabolism in population of Novosibirsk city (the largest scientific and industrial centre of West Siberia). Polymorphism of apolipoprotein E (APOE) gene was studied in sample of inhabitants of Novosibirsk city aged 25-64 years (n=611), in patients with nonfatal myocardial infarction (n=141), in patients with nonfatal stroke (n=167), in men with sudden cardiac death (n=250) and in long-livers of the same region (n=97). A lipid profile depending on APOE genotypes was analyzed in a population and in a group of long-livers of Novosibirsk. In male population 25-64 years of age dynamics (changes) of frequencies APOE

genotypes are not revealed. In comparison with frequencies of APOE genotypes in men is more senior than 83 years has appeared, that the frequency of a genotype ϵ_3/ϵ_4 has decreased 4 times, and the frequency of a genotype ϵ_2/ϵ_3 has increased 2 times. Among the persons of senile age and long-livers, both men, and women the carriers of a genotype ϵ_4/ϵ_4 on APOE gene are not revealed. The highest level of total cholesterol in population of Novosibirsk is characteristic for a genotype APOE ϵ_4/ϵ_4 . The introduction of genotyping of human apolipoprotein E in a population of Novosibirsk is expedient.

Keywords: atherosclerosis, apolipoprotein E, gene, polymorphism, population frequency, promotor, sudden death, myocardial infarction, stroke, long-lives.
