

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.153.915-092

Смирнов Г.П.¹, Малышев П.П.², Рожкова Т.А.², Зубарева М.Ю.², Шувалова Ю.А.², Ребриков Д.В.^{3,4}, Титов В.Н.²

ВЛИЯНИЕ РАСПРОСТРАНЁННОГО ВАРИАНТА RS2230806 ГЕНА ABCA1 НА УРОВНИ ЛИПИДОВ ПЛАЗМЫ У ПАЦИЕНТОВ С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ

¹ГБУЗ г. Москвы «Городская поликлиника № 212 Департамента здравоохранения г. Москвы», 119620, Москва;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, 121552, Москва;

³ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава РФ, 117997, Москва

Целью данной работы стала оценка связи полиморфизма rs2230806 гена ABCA1 с липидным профилем у пациентов с выраженной дислипидемией. В исследование включили 363 пациента (из них 42,8% мужчин), средний возраст составил 48,7 года, 35,5% больных получали медикаментозную гиполипидемическую терапию (преимущественно статины). Количественное определение общего холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) осуществляли унифицированным ферментативным методом, ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП) – прямым гомогенным методом в сыворотке натощак. Генотип по позиции rs2230806 гена ABCA1 определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием примыкающих проб и плавлением продуктов реакции после ПЦР. Частоты аллелей и генотипов варианта rs2230806 гена ABCA1 у больных с дислипидемией не отличались от таковых в группе здоровых лиц (спортсменов). Уровни липидов плазмы – общего ХС, ТГ и ХС ЛВП в среднем у пациентов с дислипидемией составили $7,8 \pm 3,4$; $3,4 \pm 6,5$ и $1,29 \pm 0,40$ ммоль/л соответственно. При сравнении между пациентами с разными генотипами содержание липидов плазмы достоверно не различалось, однако при анализе различных моделей наследования изучаемого аллельного варианта обнаружена значимая ассоциация с уровнем ТГ в аддитивной модели, в которой каждый минорный аллель (А) дополнительно усиливал влияние на уровень ТГ плазмы на 1,02 ммоль/л ($p = 0,044$). Результаты данного исследования демонстрируют наличие влияния распространённого варианта rs2230806 гена ABCA1 на уровень ТГ плазмы у больных с выраженной дислипидемией.

Ключевые слова: АТФ-связывающий кассетный транспортёр А1; полиморфизм R219K (rs2230806) гена ABCA1.

Для цитирования: Смирнов Г.П., Малышев П.П., Рожкова Т.А., Зубарева М.Ю., Шувалова Ю.А., Ребриков Д.В., Титов В.Н. Влияние распространённого варианта rs2230806 гена ABCA1 на уровни липидов плазмы у пациентов с дислипидемией. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63(7): 410-413. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-7-410-413>

Smirnov G.P.¹, Malyshev P.P., Rozhkova T.A.², Zubareva M.Y.², Shuvalova Y.A.², Rebrikov D.V.^{3,4}, Titov V.N.²

THE EFFECT OF ABCA1 RS2230806 COMMON GENE VARIANT ON PLASMA LIPID LEVELS IN PATIENTS WITH DYSLIPIDEMIA

¹City Polyclinic № 212 of the Moscow Healthcare Department, Moscow, 119620;

²National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, 121552;

³Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997;

⁴National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, 117997

The aim of this work was to assess the relationship of rs2230806 SNP of ABCA1 with lipid profile in patients with severe dyslipidemia. The study included 363 patients (42.8% of males), the average age was 48.7 years, 35.5% of patients received hypolipidemic drugs (mainly statins). Quantitative determination of total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) in fasting serum was carried out by a unified enzymatic method, and high density lipoproteins (HDL) – by a direct homogeneous method. Genotype according to the rs2230806 position in the ABCA1 gene was determined by polymerase chain reaction (PCR) «in real time» using adjacent samples and melting reaction products after PCR. The frequencies of alleles and genotypes of variant rs2230806 of ABCA1 gene in patients with dyslipidemia did not differ from those in the control group of healthy individuals (athletes). The levels of plasma lipids - TC, TG and HDL cholesterol, on average, in patients with dyslipidemia were 7.8 ± 3.4 , 3.4 ± 6.5 and 1.29 ± 0.4 mmol/l, respectively. Compared to different genotypes, the plasma lipid concentrations did not differ significantly, but the analysis of different inheritance models of the allelic variant studied showed a significant association with the level of TG in the additive model, in which each minor allele (a) further enhanced the effect on the level of plasma TG at 1.02 mmol/l ($p=0.044$). The results of this study demonstrate the effect of a common variant rs2230806 of the ABCA1 gene on the plasma TG level in patients with severe dyslipidemia.

Key words: ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1 gene polymorphism, R219K, rs2230806.

For citation: Smirnov G.P., Malyshev P.P., Rozhkova T.A., Zubareva M.Y., Shuvalova Y.A., Rebrikov D.V., Titov V.N. The effect of ABCA1 rs2230806 common gene variant on plasma lipid levels in patients with dyslipidemia. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018; 63 (7): 410-413 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-7-410-413>

For correspondence: Malyshev P.P., e-mail: pavel-malyshev@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 14.03.2018
Accepted 01.04.2018

Для корреспонденции: Малышев Павел Прокопьевич, д-р мед. наук, ст. науч. сотр. отдела проблем атеросклероза ; e-mail: pavel-malyshev@mail.ru

АТФ-связывающий кассетный транспортёр А1 (ABCA1) – ключевой белок одной из первых стадий обратного транспорта холестерина (ХС), опосредующий отток ХС и фосфолипидов от мембран клеток к апо-липопротеинам (апо) плазмы А-I и Е. Белок кодируется одноимённым геном (*ABCA1*), локализующимся на хромосоме 9 в области 9q31.1. Известно, что изменения структуры этого гена могут предопределять уровни ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП) плазмы и риск ишемической болезни сердца (ИБС). Мутации гена *ABCA1* являются причиной танжерской болезни и наследственного дефицита ЛВП, характеризующихся низкими уровнями ХС ЛВП и апоА-I плазмы, а также повышенным риском раннего развития коронарного атеросклероза [1]. Идентифицировано также несколько полиморфизмов (вариантов) гена *ABCA1*, включая наиболее распространённый – rs2230806 (R219K, G1051A) в положении 107620867 соответствующей хромосомы. Данные метаанализов относительно влияния этого аллельного варианта на риск развития ИБС и уровень ХС ЛВП противоречивы и в значительной степени определяются этнической принадлежностью. Так, в работе Х. Ма и соавт. [2] показано, что К-аллель данного полиморфизма ассоциирован с более высоким уровнем ХС ЛВП и защитным эффектом против ИБС у представителей как монголоидной, так и европеоидной расы, тогда как позже, в более крупном метаанализе, проведённом Y. Yin и соавт. [3], не выявлено значимой связи rs2230806 с риском атеросклероза у лиц европеоидной расы, хотя у представителей монголоидной расы протективное влияние сохранялось. Вместе с тем в ряде исследований ассоциация между rs2230806 *ABCA1* и ХС ЛВП плазмы была документирована, однако результаты многих работ противоречивы, а взаимосвязь зависела от национального состава обследованных лиц. Следует также отметить, что большая часть исследований по ассоциациям данного аллельного варианта с липидным профилем проведена среди больных ИБС и контрольных выборок из общей популяции, тогда как работы среди субпопуляций пациентов отдельных групп, в частности, с наследственными нарушениями липидного обмена (семейной гиперхолестеринемией) или ожирением, малочисленны [4, 5]. В данной работе мы оценили связь полиморфизма rs2230806 гена *ABCA1* с липидным профилем у пациентов с различными формами выраженного нарушения липидного обмена (дислипидемии).

Материал и методы. В исследование включили 363 пациента (156, или 43% мужчин, средний возраст 43,8 года, и 207, или 57% женщин, средний возраст – 52,4 года), у которых были доступны результаты генетического тестирования. Группа состояла из лиц с различными типами гиперлипопротеинемии, обратившихся первично или уже наблюдавшихся в Институте клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова по поводу нарушения липидного обмена. Часть больных (35,55%) находилась на гиполипидемической терапии препаратами разных групп: 23,9% пациентов – на монотерапии статином, 1,9% – на монотерапии фибратом, 1,7% – на монотерапии эзетимибом, 0,55% – на монотерапии ω -3-полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК), 3,9% – на комбинации статина с эзетимибом, 2,5% – на комбинации статина с фибратом, 0,8% – на комбинации статина с ω -3-ПНЖК, 0,3% – на комбинации статина с фибратом и ω -3-ПНЖК. Среди принимаемых лекарственных препаратов наиболее частыми были статины,

однако при сравнении пациентов с разными генотипами *ABCA1* статистически значимых различий по частоте использования статинов не отмечалось: 24,6% – среди носителей генотипа G/G, 23% – генотипа G/A и 22,5% – генотипа A/A. Группы также достоверно не отличались по частоте использования остальных, реже применявшихся препаратов.

Измерение липидов сыворотки крови. Количественное определение общего ХС, триглицеридов (ТГ) и ХС ЛВП в сыворотке крови натощак проводили на биохимическом анализаторе Architect С8000 («Abbott», США) фотометрическими методами с использованием реактивов фирмы – производителя оборудования. Общий ХС и ТГ определяли унифицированным ферментативным методом, ХС ЛВП – прямым гомогенным методом.

Генотипирование варианта rs2230806 гена ABCA1. Генотип по позиции rs2230806 гена *ABCA1* определяли методом ПЦР в реальном времени с использованием примыкающих проб и плавлением продуктов реакции после ПЦР [6]. Использовали коммерческую тест-систему «Генетика метаболизма» («ДНК-Технология», Россия, кат. №: R1-H908-N3/4). ПЦР проводили с помощью детектирующего амплификатора «ДТпрайм» («ДНК-Технология», Россия, кат. № O-DTPRIME4M1). Использовали следующий температурный режим амплификации: 94°C – 10 с, 64°C – 30 с, в течение 50 циклов. По завершении реакции амплификации получали кривые плавления путём повышения температуры реакционной смеси с 25 до 75°C с шагом 1°C, измеряя уровень флуоресценции на каждом шаге. Процедуру генотипирования проводили в двух повторностях.

Статистический анализ. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA 10.0 и SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>). Результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения. При сравнении групп по количественному признаку использовали параметрический (однофакторный ANOVA) и непараметрический (ранговый анализ по Краскелу–Уоллису) методы. SNPStats – программа, разработанная для анализа генетических эпидемиологических исследований для изучения ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). С помощью данной программы для каждого выбранного SNP получены результаты: частота аллелей и генотипов, тест на распределение по закону Харди–Вайнберга, анализ ассоциации SNP с ответом на основе линейной регрессии. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Распределение частот генотипов аллельного варианта rs2230806 гена ABCA1 среди пациентов с дислипидемией. Частоты аллелей и генотипов варианта rs2230806 гена *ABCA1* сравнивали среди здоровых лиц (спортсменов) и больных с дислипидемией (табл. 1). Аллельные частоты между группами были аналогичными.

Распределение генотипов у больных с дислипидемией подчинялось уравнению равновесия Харди–Вайнберга.

Клинико-биохимические данные пациентов с дислипидемией согласно генотипу ABCA1 и оценка связи генотипа с уровнями липидов плазмы. Клинико-биохимические данные пациентов с дислипидемией в зависимости от генотипа *ABCA1* представлены в табл. 2. Различия в представленных характеристиках, включая липиды сыворотки, между разными генотипами не достигали статистической значимости.

Таблица 1

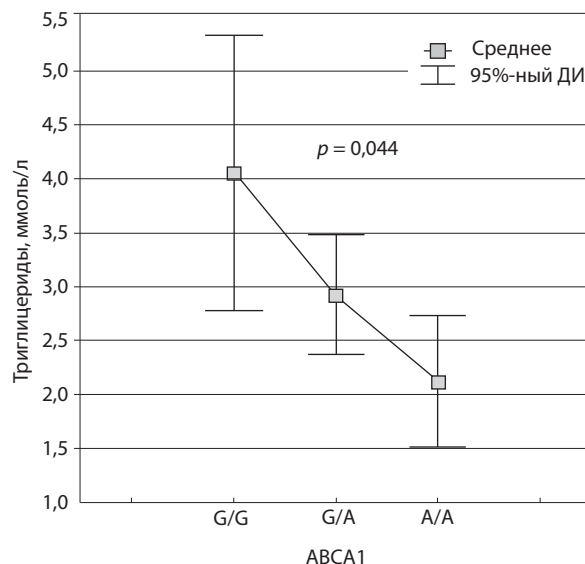
Распределение частот аллелей и генотипов аллельного варианта rs2230806 гена ABCA1 среди здоровых лиц и больных с дислипидемией (ДЛ)

Группа	Частоты генотипов				Аллельные частоты	
	G/G	G/A	A/A	G/A+A/A	G	A
Здоровые лица (n = 95)	46%	46%	8%	54%	0,7	0,3
Пациенты с ДЛ (n = 363)	50%	39%	11%	50%	0,7	0,3

Однако при анализе различных моделей наследования изучаемого SNP (single nucleotide polymorphism) обнаружена значимая ассоциация с уровнем ТГ сыворотки в аддитивной модели (additive inheritance model), тогда как в других моделях и с другими фенотипическими (липидными) признаками достоверной связи не обнаружено. Аддитивная модель наследования количественного признака предполагает, что ожидаемое значение признака у гетерозигот является средним ожидаемых значений признака гомозигот. В данной модели каждый минорный аллель дополнительно усиливает влияние на уровень ТГ плазмы на 1,02 ммоль/л (см. рисунок).

Обсуждение. Мы исследовали влияние варианта rs2230806 гена ABCA1 на липидный профиль у больных с дислипидемией. Частота минорного аллеля (А) данного полиморфизма довольно высока и, как показано в исследовании S. Clee и соавт. [7], в европейской популяции составляет 46%. Распространённость варианта rs2230806 в российской популяции, по-видимому, существенно не отличается от таковой в западных популяциях, так как оценки, полученные в работах Т.И. Родыгиной и соавт. (49,8% в контрольной группе и 49,6% – среди больных атеросклерозом) [8], Т.В. Мартынович и соавт. (46,7% среди больных с ИБС и хронической сердечной недостаточностью) [9], а также наши данные (54% в контрольной группе и 50% – среди пациентов с дислипидемией) довольно близки.

Данные проведённых метаанализов свидетельствуют, что полиморфизм rs2230806 ассоциируется со снижением риска ИБС [2, 3], что может быть обусловлено влиянием ABCA1 на уровни липидов плазмы, особенно ХС ЛВП. Тем не менее в ряде исследований протективный эффект rs2230806 в отношении ИБС не сопровождался достоверными изменениями содержания ЛВП плазмы [2, 7]. В нашем исследовании также не было обнаружено значимого влияния изучаемого полиморфизма на уровень ХС ЛВП. Необходимо отметить,



Эффект минорного аллеля варианта rs2230806 гена ABCA1 на уровень триглицеридов плазмы у больных с дислипидемией.

что этот эффект может быть незначительным и проявляться лишь при анализе достаточно большого массива данных. Так, в исследовании J. Mokuo и соавт. [10] при анализе данных 5133 лиц, включённых в исследование, средняя концентрация ХС ЛВП у носителей генотипа КК (минорного аллеля) оказалась выше, чем у носителей аллеля «дикого» типа, всего на 1,18 мг/дл, или 0,03 ммоль/л.

Наиболее значимым результатом нашего исследования является обнаружение связи rs2230806 гена ABCA1 с уровнем ТГ; в аддитивной модели наследования минорный аллель дополнительно усиливает влияние на уровень ТГ плазмы на 1,02 ммоль/л. Гипотриглицеридемический эффект данного аллельного варианта ранее был отмечен и в зарубежных исследованиях [7, 11]. Выявленное снижение уровней ТГ плазмы у носителей аллеля А в нашем исследовании объясняется, очевидно, спецификой включённых пациентов (дислипидемия с преобладанием гипертриглицеридемии); работ среди подобного контингента больных ранее не проводилось. Ассоциация полиморфизма rs2230806 как со снижением содержания ТГ плазмы, так и тяжестью и риском ИБС, выявленная в зарубежных исследованиях, свидетельствует о том, что этот аллельный вариант повышает функцию белка и обратный транспорт ХС [7]. Экспериментальные работы

Таблица 2

Клинико-биохимические данные пациентов с дислипидемией в зависимости от генотипа ABCA1

Признак	Все лица (n = 358)	Генотип ABCA1			P
		G/G (n = 180)	G/A (n = 138)	A/A (n = 40)	
Возраст, годы	48,7 ± 14,3	48,9 ± 13,7	47,6 ± 14,9	51,9 ± 12,1	нд*
Мужчины, %	42,8	43,9	47,1	32,5	нд
Лечение, %	35,5	37,6	30,9	30	нд
Общий ХС, ммоль/л	7,8 ± 3,4	7,89 ± 3,10	7,56 ± 3,80	7,97 ± 2,10	нд
Триглицериды, ммоль/л	3,4 ± 6,5	4,05 ± 8,60	2,9 ± 3,3	2,1 ± 1,9	нд
Холестерин ЛВП, ммоль/л	1,29 ± 0,40	1,29 ± 0,40	1,27 ± 0,40	1,38 ± 0,40	нд

Примечание. * – различия статистически недостоверны.

на культуре клеток показывают, что увеличение оттока свободного ХС из гепатоцитов (обратного транспорта ХС) вследствие повышения экспрессии *ABCA1* уменьшает секрецию печенью липопротеинов очень низкой плотности, богатых ТГ, в кровотоки [12, 13].

В заключение отметим, что полученные данные показывают наличие эффекта распространённого варианта rs2230806 гена *ABCA1* на уровень ТГ плазмы у больных с дислипидемией, который, по-видимому, значительно выше при наличии гипертриглицеридемии, однако для подтверждения этого факта необходимы более крупные исследования у лиц с исходно повышенным уровнем ТГ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-5, 7, 10-13
см. REFERENCES)

6. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. ПЦР «в реальном времени». М.: БИНОМ. *Лаборатория знаний*; 2009.
8. Родыгина Т.И., Дёмина Е.П., Шейдина А.М., Зверева В.В., Курьянов П.С., Вавилов В.Н. и др. Влияние вариантов генов *ABCA1* транспортера и параоксоназы 1 на риск развития и тяжесть течения атеросклероза. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2007; 6(4): 21-8.
9. Мартынович Т.В., Акимова Н.С., Федотов Э.А., Шварц Ю.Г. Полиморфизм генов, ассоциированных с повышенным сердечно-сосудистым риском, и когнитивные расстройства у пациентов с ишемической болезнью сердца, осложнённой хронической сердечной недостаточностью. *Сердце*. 2015;14(1):13-8.

REFERENCES

1. Brooks-Wilson A., Marcil M., Clee S.M., Zhang L.H., Roomp K., van Dam M., et al. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat. Genet.* 1999; 22(4): 336-45.
2. Ma X.Y., Liu J.P., Song Z.Y. Associations of the ATP-binding cassette transporter A1 R219K polymorphism with HDL-C level and coronary artery disease risk: A meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2011; 215: 428-34.
3. Yin Y.W., Li J.C., Gao D., Chen Y.X., Li B.H., Wang J.Z., et al.

- Influence of ATP-binding cassette transporter 1 R219K and M883I polymorphisms on development of atherosclerosis: a meta-analysis of 58 studies. *PLoS*. 2014; 9(1):e86480.
4. Cenarro A., Artieda M., Castillo S., Mozas P., Reyes G., Tejedor D., et al. A common variant in the *ABCA1* gene is associated with a lower risk for premature coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *J. Med. Genet.* 2003; 40(3):163-8.
 5. Yao M.H., Guo H., He J., Yan Y.Z., Ma R.L., Ding Y.S., et al. Interactions of six SNPs in *ABCA1* gene and obesity in low HDL-C disease in Kazakh of China. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2016;13(2):176.
 6. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. «Real time» PCR [PCR в реальное время]. Москва: БИНОМ; 2009. (in Russian)
 7. Clee S.M., Zwinderman A.H., Engert J.C., Zwarts K.Y., Molhuizen H.O.F., Roomp K. et al. Common genetic variation in *ABCA1* is associated with altered lipoprotein levels and a modified risk for coronary artery disease. *Circulation*. 2001;103:1198-1205.
 8. Rodigina T.I., Demina E.P., Scheidina A.M., Zvereva V.V., Kur'yanov P.S., Vavilov V.N. et al. The role of *ABCA1* and *PON1* genetic variants in atherosclerosis development and severity. *Regionarnoe krovoobrachshenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2007; 6(4): 21-8. (in Russian)
 9. Martynovich T.V., Akimova N.S., Fedotov E.A., Shvarts Y.G. Polymorphism of genes, associated with increased cardiovascular risk, and cognitive disorders in patients with ischemic heart disease complicated with chronic heart failure. *Serdtshe*. 2015;14(1):13-8. (in Russian)
 10. Mokuno J., Hishida A., Morita E., Sasakabe T., Hattori Y., Suma S., et al. ATP-binding cassette transporter A1 (*ABCA1*) R219K (G1051A, rs2230806) polymorphism and serum high-density lipoprotein cholesterol levels in a large Japanese population: cross-sectional data from the Daiko Study. *Endocr. J.* 2015; 62(6):543-9.
 11. Padsar A., Yadegarfar G., Cumming A., Whalley L., St Clair D., MacLeod M.J. The effect of *ABCA1* gene polymorphisms on ischaemic stroke risk and relationship with lipid profile. *BMC Med. Genet.* 2007;8:30.
 12. Sahoo D., Trischuk T.C., Chan T., Drover V.A., Ho S., Chimini G., et al. *ABCA1*-dependent lipid efflux to apolipoprotein A-I mediates HDL particle formation and decreases VLDL secretion from murine hepatocytes. *J. Lipid Res.* 2004;45:1122-31.
 13. Liu M., Chung S., Shelness G.S., Parks J.S. Hepatic *ABCA1* and VLDL triglyceride production. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(5):770-7.

Поступила 14.03.18
Принята к печати 01.04.18