

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА *СЕТР* НА АКТИВНОСТЬ ЕГО БЕЛКА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

© Л. М. Шарфетдинова,^{1,*} Р. К. Исмаилова,¹ Е. В. Майкова,¹
А. А. Подольская,² О. А. Кравцова¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет
и ² Казанский государственный медицинский университет, кафедра внутренних болезней № 2;
* электронный адрес: l_sungatullina@mail.ru

В работе показано отсутствие ассоциации двух полиморфных локусов, локализованных в промоторной области гена *СЕТР* (*rs1800775* и *rs4783961*), кодирующего белок-переносчик эфиров холестерина, с риском развития ишемической болезни сердца у населения Республики Татарстан ($P > 0.05$) и отсутствие влияния определенных генотипов на уровень активности белка.

Ключевые слова: белок-переносчик эфиров холестерина, генетическая предрасположенность, ишемическая болезнь сердца.

Принятые сокращения: ИБС — ишемическая болезнь сердца, ЛПВП — липопротеины высокой плотности, ЛП(О)НП — липопротеины очень низкой плотности, ЭХ — эфиры холестерина, *СЕТР* — cholesteryl ester transfer protein (белок-переносчик эфиров холестерина).

Белок-переносчик эфиров холестерина (*СЕТР*) — гидрофобный гликопротеин, осуществляющий транспорт эфиров холестерина и триглицеридов между ЛПВП и ЛП(О)НП (Barter et al., 2003). Исследованиями некоторых авторов показано, что увеличение концентрации и активности *СЕТР* способствует накоплению холестерина в составе ЛПНП (Klerkx et al., 2003; Thompson et al., 2008), что в свою очередь является фактором риска развития атеросклеротического повреждения сосудов, приводящих, в частности, к ИБС.

Согласно проведенным полногеномным исследованиям и метаанализу данных, определенные генетические варианты гена *СЕТР* ассоциированы с повышенной активностью белка и снижением атеропротективной фракции ЛПВП (Agerholm-Larsen et al., 2000; Kooner et al., 2008; Thompson et al., 2008). Однако при валидации результатов полногеномного анализа получены противоречивые данные о вкладе определенных полиморфных локусов данного гена в формирование предрасположенности к ИБС, что может быть обусловлено в первую очередь этногенетической гетерогенностью исследованных популяций (Yilmaz et al., 2005; Heid et al., 2008; Ridker et al., 2009; Li et al., 2013; Wang et al., 2013).

В связи с этим нами проведены анализ ассоциации двух полиморфных маркеров промоторной области гена *СЕТР* с риском развития ИБС у населения Республики Татарстан и оценка их влияния на активность белка.

Материал и методика

Генотипирование по полиморфным локусам проведено у 516 неродственных индивидуумов из популяции Республики Татарстан методом ПЦР-ПДРФ согласно

условиям, предложенным ранее (Klerkx et al., 2003). Группа пациентов с ИБС включала в себя 344 человека, группа сравнения — 172 условно здоровых донора. Обе группы были сформированы на базе Межрегионального клинико-диагностического центра и больницы скорой медицинской помощи № 1 (г. Казань). Материалом для исследования служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции (Johns, Paulus-Thomas, 1989).

Активность белка *СЕТР* в сыворотке крови 80 человек определяли по интенсивности флуоресценции нейтральных липидов, обусловленной *СЕТР*-опосредованным переходом донорных молекул в акцепторные, и выражали в пМ/(мкл · ч).

Статистическую обработку данных по генотипированию проводили с помощью программы UNPHASED v. 3.1.5 (Dudbridge, 2006). При попарном сравнении частот генотипов и аллелей между собой применяли точный критерий Фишера при уровне значимости $P < 0.05$.

Использованные реактивы: *СЕТР* Activity Assay Kit (Abcam, США), олигонуклеотиды (Литех, Россия), эндонуклеазы рестрикции (СибЭнзим, Россия) и агароза (Хеликон, Россия).

Результаты и обсуждение

Ген *СЕТР*, по данным полногеномного анализа, ассоциирован с повышением содержания фракции ЛПВП в европейских популяциях (Aulchenko, 2009), однако роль самого белка в процессах атерогенеза остается до конца не выясненной. С одной стороны, *СЕТР* может проявлять антиатерогенные функции, обеспечивая обратный транспорт ЭХ в печень, но в то же время, в силу того

Частоты генотипов полиморфных маркеров гена *CETP* в исследуемых группах

Генотип	<i>rs4783961</i>		<i>P</i>	Генотип	<i>rs1800775</i>		<i>P</i>
	ИБС«+»	ИБС«-»			ИБС«+»	ИБС«-»	
GG	0.26	0.24	0.06	CC	0.27	0.26	0.85
GA	0.6	0.55	0.34	CA	0.54	0.56	0.69
AA	0.14	0.21	0.6	AA	0.19	0.18	0.78

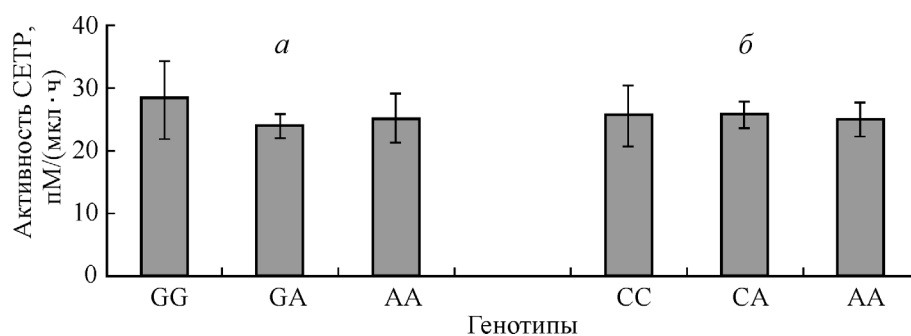


Диаграмма распределения средних значений активности белка *CETP* в зависимости от генотипа полиморфных локусов *rs4783961* (а) и *rs1800775* (б).

что он осуществляет и прямой перенос ЭХ, может увеличиваться фракция проатерогенных ЛП(О)НП (Barter et al., 2003).

В ходе нашего исследования показано, что активность *CETP* значимо не различалась между группами больных ИБС и условно здоровых доноров (26.15 ± 0.99 и 27.8 ± 2.15 пМ/(мкл·ч) соответственно). Отсутствовала также и корреляция между активностью белка и уровнем основных фракций липопротеинов ($P > 0.05$).

Поскольку рядом авторов показано влияние генетического полиморфизма на активность белка, нами проведено исследование ассоциации двух полиморфных локусов промоторной области гена *CETP* (*rs1800775* и *rs4783961*), которые потенциально могут оказывать влияние на концентрацию и активность белка с риском развития атеросклероза коронарных артерий у населения Республики Татарстан.

В ходе анализа показано, что распределение частот аллелей и генотипов находится в соответствии с равновесием Харди—Вайнберга ($P > 0.05$). Однако статистически значимых различий в распределении генотипов между исследованными группами обнаружено не было (см. таблицу), при этом носительство определенных генотипов по полиморфизму промоторной области также не влияет на его активность (см. рисунок).

Полученные нами результаты могут свидетельствовать о том, что исследованные полиморфные маркеры промоторной области гена *CETP* не вносят вклада в формирование генетической предрасположенности к атеросклерозу, и в частности к ИБС, именно в популяции Республики Татарстан, что может быть связано с этногенетическими особенностями исследованных групп. В то же время возможно, что другие полиморфные варианты данного гена (например, *rs5882*) будут ассоциированы с этим заболеванием в конкретной этногеографической группе, однако эти предположения требуют дальнейшего анализа.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Список литературы

- Agerholm-Larsen B., Nordestgaard B. G., Steffensen R., Jensen G., Tybjaerg-Hansen A. 2000. Elevated HDL cholesterol is a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a common mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene. *Circulation*. 101 (16) : 1907—1912.
- Aulchenko Y. S., Ripatti S., Lindquist I. et al. 2009. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat. Genet.* 41 : 47—55.
- Barter P., Brever H., Champan M., Hennekens C., Rader D., Tall A. 2003. Cholesteryl Ester transfer protein. A novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23 : 160—176.
- Dudbridge F. 2006. Medical research council biostatistics unit. Cambridge, UK. <http://homepages.lshtm.ac.uk/frankdudbridge/software/unphased/>
- Heid I. M., Boes E., Muller M., Kollerits B., Lamina C., Coassin S., Gieger C., Döring A., Klopp N., Frikke-Schmidt R., Tybjaerg-Hansen A., Brandstätter A., Luchner A., Meitinger T., Wichmann H. E., Kronenberg F. 2008. Genome-wide association analysis of high-density lipoprotein cholesterol in the population-based KORA study sheds new light on intergenic regions. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 1 : 10—20.
- Johns M., Paulus-Thomas J. 1989. Purification of human genomic DNA from whole blood using proteinase K treatment followed by phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 180 : 276—278.
- Klerkx A. H., Tanck M. W., Kastelein J. J., Molhuizen H. O., Jukema J. W., Zwinderman A. H., Kuivenhoven J. A. 2003. Haplotype analysis of the *CETP* gene: not TaqIB, but the closely linked-629C→A polymorphism and a novel promoter variant are independently associated with *CETP* concentration. *Human Mol. Gen.* 12 : 111—123.

Kooner J. S., Chambers J. C., Aguilar-Salinas C. A., Hinds D. A., Hyde C. L., Warnes G. R. et al. 2008. Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. *Nat. Genet.* 40 : 149—151.

Li Y. Y., Wu X. Y., Xu J., Qian Y., Zhou C. W., Wang B. 2013. Apo A5-1131T/C, FgB-455G/A, -148C/T, and CETP Taq1B gene polymorphisms and coronary artery disease in the Chinese population: a meta-analysis of 15,055 subjects. *Mol. Biol. Rep.* 40 (2) : 1997—2014.

Ridker P. M., Paré G., Parker A. N., Zee R. Y., Miletich J. P., Chasman D. I. 2009. Polymorphism in the CETP gene region, HDL cholesterol, and risk of future myocardial infarction: genomewide analysis among 18245 initially healthy women from the Women's Genome Health Study. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2 : 26—33.

Thompson A., Di Angelantonio E., Sarwar N., Erqou S., Saleheen D., Dullaart R. P., Keavney B., Ye Z., Danesh J. 2008. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels, and coronary risk. *JAMA.* 299 (23) : 2777—2788.

Wang J., Wang L. J., Zhong Y., Gu P., Shao L. Q., Jiang S. S., Gong J. B. 2013. CETP gene polymorphisms and risk of coronary atherosclerosis in a Chinese population. *Lipids Health Dis.* 12 : 176. doi: 10.1186/1476-511X-12-176.

Yilmaz H., Isbir T., Agachan B., Karaali Z. E. 2005. Effects of cholesterol ester transfer protein Taq1B gene polymorphism on serum lipoprotein levels in Turkish coronary artery disease patients. *Cell Biochem Funct.* 23 (1) : 23—28.

Поступила 4 II 2014

POLYMORPHISM OF THE *CETP* GENE PROMOTER REGION
AND ITS INFLUENCE ON PROTEIN ACTIVITY IN CORONARY HEART DISEASE

L. M. Sharafetdinova,¹* R. K. Ismagilova,¹ E. V. Maykova,¹ A. A. Podolskaya,² O. A. Kravtsova¹

¹ Kazan (Volga Region) Federal University and ² Kazan State Medical University;
* e-mail: l_sungatullina@mail.ru

The paper shows the lack of association of two polymorphic loci localized in the promoter region of the gene *CETP* (*rs1800775* and *rs4783961*) with the risk of coronary heart disease in the population of the Republic of Tatarstan. Also, there are no differences in the activity of the enzyme among the carriers of different genotypes.

Key words: cholesteryl ester transfer protein, coronary heart disease, genetic predisposition.