

## Ассоциация генетических маркеров с липидными и нелипидными эффектами аторвастатина у больных с ранней ишемической болезнью сердца

О.С. Королева, \*А.В. Бровкин, \*А.Г. Никитин, \*\*О.А. Азизова, \*В.В. Носиков, Д.А. Затейщиков  
ФГУ «Учебно-научный медицинский центр» УД Президента РФ,  
\* Государственный научный центр РФ «ГосНИИ генетика»,  
\*\*НИИ физико-химической медицины ФМБА, г. Москва

Действие статинов отличается выраженной вариабельностью, что требует поиска достоверных маркеров для определения их эффективности, которыми могут являться генетические особенности больных. Нами изучен ряд полиморфизмов генов: F5 (C(-426)T), F7 (G73A), ITGB3 (Leu33Pro (A1/A2)), FGB (G(-455)A), PAI-1 (4G(-675)5G), PROC (C(-1654)T), PROC (A(-1641)G), APOE (G(-186)T), APOB (I/D), LPL (Ser477Ter), HMGCR1 (C(-1947)A), CYP3A4 (Met445Thr), CYP3A4 (A(-290)G), CYP3A5 (G(6986)A), CYP2C8 (T(-370)G), PARP1 (C321G (Leu54Phe)), GNB3 (C825T), ADRB3 (Trp64Arg), SOD2 (Ala(-9)Val), CAT (T(-262)C), HTR2A (T102C (AG)), SLC6A4 (I/D), MTHFR (C677T), MTHFR (A1298C). Изученные генетические полиморфизмы связаны с ранним развитием атеросклероза, ИБС и гиперлипидемии, а также участвуют в метаболизме липидов и статинов. Обследован 41 мужчина с ИБС, манифестировавшей в возрасте до 50 лет, когда генетические факторы наиболее выражены и имеют особое значение. У больных с ранней ИБС полиморфные маркеры F5 (C(-426)T), F7 (G73A), ITGB3 (Leu33Pro (A1/A2)), FGB (G(-455)A), PAI-1 (4G(-675)5G), PROC (C(-1654)T), PROC (A(-1641)G), APOB (I/D), LPL (Ser477Ter), CYP3A4 (Met445Thr), CYP3A5 (G(6986)A), CYP2C8 (T(-370)G), PARP1 (C321G (Leu54Phe)), GNB3 (C825T), ADRB3 (Trp64Arg), SOD2 (Ala(-9)Val), CAT (T(-262)C), HTR2A (T102C (AG)), SLC6A4 (I/D), MTHFR (C677T), MTHFR (A1298C) не ассоциировались с вариабельностью липидных и нелипидных эффектов аторвастатина. Генотип CC полиморфного маркера APOE (C(-186)T) ассоциировался с более выраженным снижением ХС и ЛНП, генотип AA полиморфного маркера CYP 3A4 (A(-290)G) связан с более высоким повышением уровня апоА1 и генотип CC полиморфного маркера HMGCR1 (C(-1947)A) связан с более выраженным снижением уровня окисления липидов плазмы. Таким образом, впервые выявлен ряд полиморфизмов и генотипов, носительство которых определяет чувствительность к аторвастатину.

**Ключевые слова:** ранняя ишемическая болезнь сердца.

Statins can influence the organism within the wide range of variability. So, searches of new reliable markers to evaluate the effectiveness of treatment should be performed. Such markers can be found in genetic peculiarities of patients. We have studied a number of gene polymorphisms: F5 (C(-426)T), F7 (G73A), ITGB3 (Leu33Pro (A1/A2)), FGB (G(-455)A), PAI-1 (4G(-675)5G), PROC (C(-1654)T), PROC (A(-1641)G), APOE (G(-186)T), APOB (I/D), LPL (Ser477Ter), HMGCR1 (C(-1947)A), CYP3A4 (Met445Thr), CYP3A4 (A(-290)G), CYP3A5 (G(6986)A), CYP2C8 (T(-370)G), PARP1 (C321G (Leu54Phe)), GNB3 (C825T), ADRB3 (Trp64Arg), SOD2 (Ala(-9)Val), CAT (T(-262)C), HTR2A (T102C (AG)), SLC6A4 (I/D), MTHFR (C677T), MTHFR (A1298C). The studied genetic polymorphisms are associated with early manifestations of atherosclerosis, ischemic heart disease (IHD) and hyperlipidemia. They also take part in lipid and statin metabolism. 41 male with IHD which had manifested at their age before 50 were taken into the study because at the above-mentioned age period genetic factors are mostly marked and play a specific role. In patients with early IHD, polymorphous markers F5 (C(-426)T), F7 (G73A), ITGB3 (Leu33Pro (A1/A2)), FGB (G(-455)A), PAI-1 (4G(-675)5G), PROC (C(-1654)T), PROC (A(-1641)G), APOB (I/D), LPL (Ser477Ter), CYP3A4 (Met445Thr), CYP3A5 (G(6986)A), CYP2C8 (T(-370)G), PARP1 (C321G (Leu54Phe)), GNB3 (C825T), ADRB3 (Trp64Arg), SOD2 (Ala(-9)Val), CAT (T(-262)C), HTR2A (T102C (AG)), SLC6A4 (I/D), MTHFR (C677T), MTHFR (A1298C) did not associate with the variability of lipid and non-lipid Atorvastatin effects. Genotype CC of polymorphous marker APOE (C(-186)T) was associated with more marked decrease of lipoproteins of low density; genotype AA of polymorphous marker CYP 3A4 (A(-290)G) is associated with higher apoA1 increase, and genotype CC of polymorphous marker HMGCR1 (C(-1947)A) is associated with more marked decrease of plasma lipid oxidation. Thus, for the first time the authors have found a raw of polymorphisms and genotypes which determine sensitivity to Atorvastatin.

**Key words:** early ischemic heart disease.

Лечение статинами ассоциируется со статистически значимым снижением смертности, снижением количества пациентов с сердечными приступами и инсультами или подвергшихся реваскуляризирующим вмешательствам как при первичной, так и при вторичной профилактике. Выраженное действие статинов на заболеваемость и смертность у лиц с достаточно широкой вариабельностью уровня холестерина в крови нельзя полностью объяснить влиянием на липиды крови. Действие статинов на

нелипидные механизмы развития атеросклероза проявляется раньше, чем их свойства оптимизировать уровень липидов крови. Это связано с тем, что блокада синтеза мевалоновой кислоты из ацетила коэнзима А приводит к значительному числу нелипидных последствий, имеющих самостоятельное значение. Статины оказывают положительное влияние на ряд важных факторов риска неблагоприятного исхода и ускоренного развития атеросклероза, таких как уровень С-реактивного белка (СРБ),

окисляемость липидов плазмы и изменение уровня оксидативного стресса, оказывая при этом противовоспалительный, антиоксидантный, иммуномодулирующий и многие другие эффекты.

Однако известно, что влияние статинов и на липиды крови, и на другие факторы риска отличается существенной вариабельностью в популяции (4S, HPS) и зависит от ряда таких факторов, как пол, возраст, этническая принадлежность, образ жизни, общее состояние пациента, наличие тяжелых сопутствующих заболеваний, качество и взаимодействие принимаемых лекарственных препаратов, особенности метаболизма и приверженность к терапии [1,2]. Однако подавляющее влияние, по некоторым оценкам от 50 до 90%, на вариабельность ответа на лекарство оказывают генетические особенности индивидов, то есть разные наследуемые изменения (мутации) в генах.

В результате фармакогенетических исследований статинов выявлено, что вариабельность ответа может быть связана с генетически детерминированной модификацией метаболизма, всасывания, экскреции и изменения структуры и функции рецепторов, на которые воздействуют как сами статины, так и липиды, что приводит к изменению фармакологического ответа. Также в ряде таких исследований выявлена ассоциативная зависимость между ответом на статины и полиморфизмом генов-кандидатов, идентифицированных в качестве предикторов ИБС, атеросклероза и гиперхолестеринемии.

Целью настоящей работы было выявление и изучение связи генетических маркеров, отвечающих за разные этапы метаболизма липидов и статинов, а также генетических предикторов ИБС, атеросклероза и гиперлипидемии с липидными и нелипидными эффектами аторвастатина у больных с манифестацией ИБС в возрасте до 50 лет.

#### **Характеристика больных и методы исследования**

В исследование включен 41 мужчина с ИБС, поступивший в Городскую клиническую больницу № 51 г. Москвы. Наличие ИБС подтверждалось перенесенным инфарктом миокарда либо данными коронароангиографии (КАГ). Таким образом, критерием включения являлось наличие инфаркта миокарда в анамнезе, типичная стенокардия в сочетании с коронарным атеросклерозом по данным КАГ или коронарный атеросклероз без клинических симптомов ИБС. Больные включались в исследование не ранее чем через 3 месяца после последнего обострения ИБС. Если выявлялись другие причины развития инфаркта миокарда кроме ИБС, больного в исследование не включали.

Возраст больных составил  $46,4 \pm 4,1$  лет. ИБС манифестировала в возрасте  $43,8 \pm 4,4$  лет. Инфаркт миокарда (ИМ) в анамнезе был у 39 больных (95,1%), средний возраст первого ИМ составил 43 года. У остальных 5% коронарный атеросклероз был доказан при помощи КАГ. У 6 человек (14,6%) развился повторный инфаркт миокарда. Большинство больных имели артериальную гипертензию (АГ) (93%), у 78% выявлена гиперлипидемия, сахарным диабетом 2 типа (СД) страдали 2 человека, у 80% отмечалось повышение массы тела, нарушение мозгового кровообращения (НМК) в анамнезе было у 2-х пациентов. Большинство включенных пациентов курили (87,8%). Данные о перенесенном ИМ, наличии АГ, СД, НМК,

отягощенном семейном анамнезе, данные о предшествующей терапии получали при опросе, осмотре, а также на основании записей в клинической истории болезни и имеющихся медицинских документах.

На момент включения и в течение всего периода наблюдения больные получали базовую стандартную терапию антиагрегантами, ИАПФ, диуретиками,  $\beta$ -блокаторами и антагонистами кальция. На момент первичного исследования больные не получали терапию, влияющую на уровень липидов крови. Случайным методом больные были разделены на две группы, каждая из которых получала по две дозы аторвастатина (Liprimar®, Pfizer): 10, затем 80 мг/сут или 80, затем 10 мг/сут, по 5 дней, с «отмывочным» периодом между ними более десяти периодов полувыведения препарата. Обе группы не отличались по клиническим характеристикам.

До и после 5 дней приема каждой дозы осуществлялось взятие крови для определения мочевой кислоты, общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой плотности (ЛВП), липопротеинов низкой плотности (ЛНП), аполипопротеина А1 (апоА1), С-реактивного белка (СРБ) и окисляемости липидов плазмы.

С этой целью пробы крови забирались утром, строго натощак, в период с 8 до 11 часов после 12-ти часового голодания. У больных СД – через 8 часов после последнего приема пищи. Сыворотка получалась путем центрифугирования крови при скорости 3000 оборотов/мин в течение 15 минут после инкубации при комнатной температуре, затем замораживалась и хранилась при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа.

Определение уровня креатинина, мочевой кислоты, глюкозы, ХС, ЛВП, ТГ сыворотки крови проводилось в Лаборатории клинической биохимии ЦКБ МЦ УД Президента РФ. Уровень ХС, ЛВП и ТГ определяли с помощью наборов CHOL, HDL-C, TG (Boehringer Mannheim). Уровень ЛНП рассчитывали по формуле W.T. Friedewald:  $\text{ЛНП (ммоль/л)} = \text{ОХС} - \text{ЛВП} - \text{ТГ} / 2,2$ , при уровне  $\text{ТГ} \leq 4,6$  ммоль/л.

Определение уровня аполипопротеина А1 (апоА1) и С-реактивного белка (СРБ) проводилось в коммерческой лаборатории «Юнимед лабораториз» иммуно-турбодиметрическим методом с антилипидным фактром с помощью реагентов «Human», Германия.

Исследование окислительной устойчивости плазмы проводилось в лаборатории Научно-исследовательского института физико-химической медицины МЗ РФ по уровню накопления вторичного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) после 24 часов инкубации с 20 мкМ сульфата меди.

На первом визите осуществлялось взятие крови для генетического анализа. Венозная кровь забиралась в пробирки типа вакутейнер с ЭДТА, замораживалась ( $-200 - 250^{\circ}\text{C}$ ) и хранилась до проведения исследования. Определение аллелей и генотипов генов-кандидатов проводилось в лаборатории молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии Государственного научного центра «ГосНИИ генетика». Выделение геномной ДНК проводили методом фенол-хлороформной экстракции. Идентификацию аллелей и генотипов полиморфных маркеров проводили с помощью полимеразной цепной реакции, расщепления фрагментов ДНК-рестриктазами и электрофоретического разделения фрагментов ДНК в

## Изученные гены-кандидаты

Гены-кандидаты	Полиморфные маркеры	Праймеры
Ген фактора свертывания крови V (F5)	C(-426)T	f5-1: 5' – gaagcagtcgctccgttacc – 3' и f5-2: 5' – gttgttccctcgtctctca – 3'
Ген фактора свертывания крови VII (F7)	G73A	F7-73-1: 5' – cccatggggaatgtcaacag – 3' и F7-73-2: 5' – ccaactgccctccaccaagtgtat – 3'
Полиморфный участок A1/A2 гена β3-субъединицы гликопротеина IIb/IIIa тромбоцитов (ITGB3)	Leu33Pro (A1/A2)	Gp3a-1: 5' - tgggacttctcttgggctcctgacttac - 3' и Gp3a-2: 5' - ccttcagcagattctcctcaggtcac - 3'
Ген фибриногена-β (FGB)	G(-455)A	FIBRa 5' - aag ggt ctt tct gat gtg tat ttt tca tag - 3' и FIBRb 5' - att tga cct act cac aag gca acc act a 3'
Ген ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1)	4G(-675)5G	PAI4G5G-F 5' – cac aca cac agt ctg gcc acg t - 3' и PAI4G5G-R 5' – cca aca gag gac tct tgg tct - 3'
Ген протеина С (PROC)	C(-1654)T A(-1641)G	PROC-F 5' - gggcaaaaatgtccccatctgaa - 3' и PROC-R2 5' - agccccacc ctgccaccaagaatg - 3' PROC-F 5' - ggg caa aaa tgt ccc cat ctg aa - 3' и PROC-R 5' - gcc cga agc cca cct ctg gc - 3'
Ген аполипопротеина Е (APOE)	G(-186)T	APOE2-F 5' - agaatggaggagggtgtccg - 3' и APOE2-R 5' - agggaggaaggaggtgggg - 3'
Ген аполипопротеина В (APOB)	I/D	ApoB-L 5' - cagctggcgatggaccgccga - 3' и ApoB-R 5' - accggccctggcgccgccgagca - 3'.
Ген липопротеинлипазы (LPL)	Ser477Ter	LPL- F 5' - catccattttctccacaggg-3' и LPL-R 5' - tagccagaatgctcaccagact-3'
Ген ГМГ-КоА-редуктазы (HMGCR1)	C(-1947)A	HMGCR-F: 5' - atctgaaatccgaaatgctcca-3' и HMGCR-R: 5' - aggctgagtatcctttatccaaa-3'
Ген цитохрома CYP3A4	Met445Thr A(-290)G	CYP3A4-445-F, gggccagagaacaattagtaaaagatt-3' и CYP3A4-445-R, gcaagaagaacaaggacaacataga-3' CYP3A4-290-F, ggggagtccaagggttctgggttct-3' и CYP3A4-290-R, tggagacagccatagagacaaggcca-3'
Ген цитохрома CYP3A5	G(6986)A	CYP3A5-6986-F, aataataataatcataatgtggtccaaacaggaagagga-3' CYP3A5-6986-R, aataataataatcataaaccaccagcttaacgaatgc-3'
Ген цитохрома CYP2C8	T(-370)G	CYP2C8-370-F, caatattctcagattaatgaccagttggga-3' CYP2C8-370-R, ttgttatcaagggtcaagtctcctatt-3'
Ген поли (АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP1)	C321G (Leu54Phe)	PARPF+54 5' – aaagtcccactggtacctctt – 3' и PARPR+54 5' – atccacctcaacgtcagggt – 3'
Ген β-субъединицы 3 изоформы протеина G (GNB3)	C825T	GNB3F+5500 5' – gtctgatccctgaccactt – 3' и GNB3R+5500 5' – ccttaccacacgctcagac – 3'
Ген β3-адренорецептора (ADRB3)	Trp64Arg	ADRB3F+386 5' – caggggttccgtgggagcg – 3' и ADRB3R+386 5' – cggccagcgaagtacgaaac – 3'.
Ген супероксиддисмутазы митохондрий (SOD2)	Ala(-9)Val	SOD2-16F2 5' - ccagcaggcagctggaccg - 3' и SOD2-16R2 5' - tccagggcgccgtagctgtagg - 3'
Ген каталазы (CAT)	T(-262)C	CAT262F 5' - agagcctcgccccgccggaccg - 3' и CAT262R 5' - taagagctgagaaagcatagct - 3'
Ген рецептора серотонина типа 2A (HTR2A)	T102C (AG)	HT2AF 5' - tctgctacaagtctgctt - 3' и HT2AR 5' - ctgcagcttttctctaggg - 3'
Ген переносчика серотонина (SLC6A4)	I/D	5-HTPPLPRF 5' – ggcgttcccctctgaatgc – 3' и 5-HTPPLPRR 5' – gaggggactgagctggacaaccac – 3'
Ген 5,10-метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR)	C677T A1298C	MTHFR - 1 5' – tgaaggagaaggtgctgctggga – 3' и MTHFR – 2 5' – aggacggtgagggtgagagtg - 3' MTHFR – 1 5' – agatgtggggggaggagctgaccagtgacg – 3' и MTHFR – 2 5' - caggccaggggagggatgaaccag - 3'

8%-ном полиакриламидном геле. Амплификацию полиморфных участков генов проводили на амплификаторе РНС-2 (“Technе”, Великобритания). Термостабильную ДНК-полимеразу Таq получили от НПО «Биотех» (Москва), трифосфаты и рестриктазы MboI и PstI получали от фирмы “Ферментас” (г.Вильнюс, Литва), рестриктазу BstDEI – от НПО “Сибэнзим” (Новосибирск). Олиго-

нуклеотидные праймеры синтезированы в НПО “Синтол” (Москва).

Определяли полиморфизм генов, участвующих в регуляции процессов метаболизма липидов и статинов, а также генов-кандидатов ИБС, атеросклероза и гиперлипидемии, в том числе участвующих в нарушениях гемостаза, в эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса и

антиоксидантной защите. Используемые полиморфные маркеры и праймеры представлены в табл. 1. Агарозные гели окрашивали бромистым этидием, полиакриламидные – нитратом серебра.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием статистического пакета программ SPSS 13.0. Сравнение непрерывных величин проводилось методом Mann–Whitney и Kruskal–Wallis. Правильность распределения частот генотипов определялась соответствием равновесию Харди–Вайнберга ( $p_i^2 + 2p_i p_j + p_j^2 = 1$ ) и рассчитывалась при помощи программного калькулятора Knud Christensen. Дискретные величины сравнивали методом  $\chi^2$  Pearson с использованием критерия Фишера. Для всех видов анализа статистически значимыми считали значения при  $p < 0,05$ .

## Результаты

### Липидное и нелипидное действие

Подтвержден липидснижающий и дозозависимый эффект аторвастатина. Уровень ХС снизился как на фоне приема 10 мг/сут, так и на фоне 80 мг/сут аторвастатина – на  $1,16 \pm 1,4$  ммоль/л и  $2,1 \pm 1,2$  ммоль/л, соответственно ( $p < 0,001$ ), также как и уровень ЛНП снизился на  $1,86 \pm 1,5$  ммоль/л и  $1,7 \pm 1,1$  ммоль/л, соответственно ( $p < 0,001$ ). Очевидно, что большая доза наиболее эффективна в отношении снижения уровня липидов. Уровень апо 1 и окисляемость плазмы не изменились при приеме 10 мг/сут аторвастатина. Однако при увеличении дозы аторвастатина до 80 мг/сут отмечается достоверное увеличение уровня апоА1 на  $0,18 \pm 0,12$  г/л ( $p = 0,024$ ) и достоверное снижение уровня МДА на 16,8% ( $p = 0,031$ ). Уровни ТГ, ЛВП, мочевой кислоты и СРБ достоверно не изменялись при приеме обеих доз аторвастатина. Характер изменения лабораторных показателей представлен в таблице 2.

### Характер действия

При дальнейшем анализе выяснилось, что достоверно изменившиеся уровни ХС, ЛНП, СРБ и МДА у разных больных изменились по-разному. Так, на примере ЛНП оказалось, что на фоне приема 10 мг/сут аторвастатина вариабельность степени снижения уровня ЛНП более выражена, чем при приеме 80 мг аторвастатина, что, вероятнее всего обусловлено дозозависимым эффектом (рис. 1).

Совсем другой характер распределения выявлен на примере изменения окисляемости плазмы (рис. 2). Улучшение показателей наблюдалось не у всех. Так, на фоне

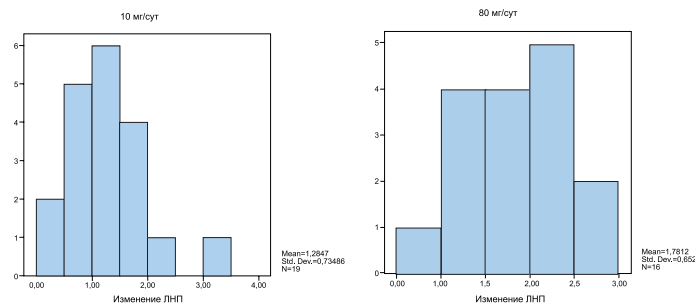


Рис. 1. Степень изменения ЛНП на фоне 5-дневного приема аторвастатина.

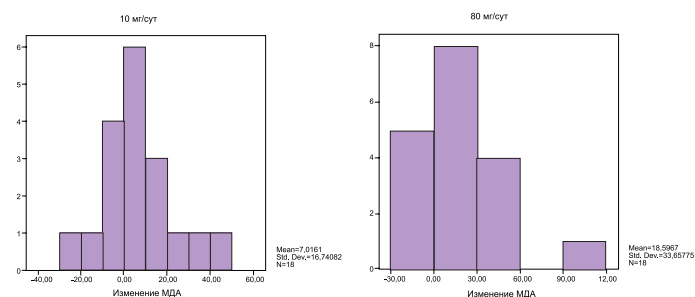


Рис. 2. Степень изменения МДА на фоне 5-дневного приема аторвастатина.

10 мг аторвастатина у половины больных отмечалось снижение, а у половины – повышение уровня МДА. В то время как на фоне приема 80 мг аторвастатина существенно увеличилось количество больных с положительным влиянием на МДА, однако у немало числа больных окисляемость ухудшалась.

### Генетические особенности проявленных эффектов

Такое различие ответов на терапию аторвастатином можно объяснить генетическими особенностями. Из изученных нами генетических полиморфизмов лишь 3 ассоциировались с различными эффектами аторвастатина. Распределение частот встречаемости генотипов этих маркеров в целом по группе представлено в таблице 3. Характер распределения частот генотипов соответствовал равновесию Харди–Вайнберга.

Так, у носителей генотипа СС полиморфного маркера С(-186)Т гена АРОЕ при приеме 10 мг/сут аторвастатина уровень ХС снизился на  $1,07 \pm 1,9$  ммоль/л, а уровень ЛНП на  $0,97 \pm 0,12$  ммоль/л, в то время как у носителей генотипов ТТ и ТС снижение данных показателей

Таблица 2

### Изменение лабораторных параметров на фоне 5-дневного приема аторвастатина 10 мг/сут и 80 мг/сут

Параметры	До 10 мг/сут	После 10 мг/сут	р	До 80 мг/сут	После 80 мг/сут	р
ХС, ммоль/л	$6,2 \pm 1,6$	$5,04 \pm 1,1$	$< 0,001$	$6,7 \pm 1,4$	$4,6 \pm 1,0$	$< 0,001$
ЛНП, ммоль/л	$4,9 \pm 1,68$	$3,04 \pm 1,4$	$< 0,001$	$5,1 \pm 1,3$	$3,3 \pm 0,9$	$< 0,001$
ЛВП, ммоль/л	$0,9 \pm 0,3$	$0,95 \pm 0,3$	нд	$0,7 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,8$	нд
ТГ, ммоль/л	$1,2 \pm 0,6$	$1,2 \pm 0,6$	нд	$1,7 \pm 1,1$	$1,4 \pm 0,6$	нд
Мочевая кислота, моль/л	$388,3 \pm 87,6$	$388,1 \pm 103,0$	нд	$396,9 \pm 94,5$	$383,9 \pm 89,5$	нд
АпоА1 г/л	$1,27 \pm 0,17$	$1,28 \pm 0,15$	нд	$0,88 \pm 0,15$	$1,06 \pm 0,23$	0,024
СРБ, мг/дл	$0,9 \pm 1,8$	$0,62 \pm 1,1$	нд	$0,6 \pm 0,6$	$0,9 \pm 1,2$	нд
МДА 24ч нмоль/мл плазмы	$99,2 \pm 30,6$	$92,2 \pm 21,2$	нд	$110,0 \pm 31,2$	$91,5 \pm 39,7$	0,031



Распределение частот генотипов полиморфных маркеров, связанных с эффективностью аторвастатина

Гены-кандидаты	Полиморфные маркеры	Распределение генотипов, %		
		AA	AG	GG
Ген цитохрома CYP3A4 (CYP3A4)	A(-290)G	AA – 63,4	AG – 31,7	GG – 4,9
Ген ГМГ-КоА-редуктазы (HMGCR1)	C(-1947)A	AA – 24,4	CA – 31,7	CC – 43,9
Ген аполипопротеина E (APOE)	C(-186)T	CC – 30,6	CT – 61,1	TT – 8,3

Таблица 4

Изменение лабораторных показателей на фоне приема 10 и 80 мг/сут аторвастатина в зависимости от генотипов исследованных полиморфизмов

Лабораторные показатели	Полиморфный маркер C(-186)T гена APOE		
	Генотипы		
	ТТ и ТС	СС	р
Средний уровень снижения ХС (10 мг/сут)	0,44	1,07	0,007
Средний уровень снижения ЛНП (10 мг/сут)	0,31	0,97	0,007
Средний уровень снижения ХС (80 мг/сут)	2,08	1,74	нд
Средний уровень снижения ЛНП (80 мг/сут)	1,87	1,72	нд
	Полиморфный маркер A(-290)G гена CYP3A4		
	Генотипы		
	AA	AG и GG	р
Средний уровень повышения апоА1 (10 мг/сут)	0,46	0,25	нд
Средний уровень повышения апоА1 (80 мг/сут)	0,36	0,03	0,001
	Полиморфный маркер C(-1947)A гена HMGCR1		
	Генотипы		
	AA и AC	CC	р
Средний уровень снижения МДА (10 мг/сут)	10,79	8,18	нд
Средний уровень снижения МДА (80 мг/сут)	16,39	33,95	0,022

проявилось в меньшей степени и составило  $0,44 \pm 0,13$  и  $0,31 \pm 0,11$  ммоль/л соответственно. Таким образом, уровни ХС и ЛНП на фоне приема 10 мг/сут аторвастатина оказались достоверно ниже у носителей генотипа СС по сравнению с носителями генотипов ТТ и ТС, ( $p = 0,007$ ). При повышении дозы аторвастатина до 80 мг/сут влияние генотипов на уровни ХС и ЛНП нивелировалось ( $p = 0,721$ ).

Изменение уровня липидов крови и уровня окисления липидов плазмы не было связано ни с одним из генотипов полиморфного маркера A(-290)G гена CYP3A4, как при приеме 10 мг/сут, так и 80 мг/сут аторвастатина. А вот повышение уровня апоА1 на фоне приема и 10, и 80 мг аторвастатина было более выражено у больных с генотипом АА. Но достоверными различия между этими генотипами стали только на фоне приема максимальной

дозы аторвастатина (80 мг/сут): у больных с генотипом АА уровень апоА1 повысился на 0,36 г/л, а у носителей генотипов АГ и GG только на 0,03 г/л ( $p=0,001$ ).

У носителей генотипа СС полиморфного маркера C(-1947)A гена HMGCR1 также на фоне приема 80 мг/сут аторвастатина отмечено более выраженное снижение уровня окисления липидов плазмы по сравнению с носителями генотипов АА и АС ( $33,95 \pm 5,90$  против  $16,39 \pm 1,70$ , соответственно,  $p = 0,022$ ), в то время как на фоне приема 10 мг/сут аторвастатина различия в снижении уровня МДА между носителями различных генотипов оказались недостоверными ( $8,18 \pm 7,62$  против  $10,79 \pm 2,70$ ,  $p = 0,940$ ). Изменение лабораторных показателей на фоне приема 10 и 80 мг/сут аторвастатина в зависимости от генотипов исследованных полиморфизмов представлены в таблице 4.

### Обсуждение

Как и предполагалось, аторвастатин как в минимальной, так и в максимальной дозах вызывал снижение уровня ХС, ЛНП, СРБ, окисляемости плазмы и повышение уровня апоА1, однако его действие было достаточно переменчивым, что, вероятнее всего, связано с генетическими особенностями индивидуумов.

В нашей работе мы исходно считали, что у молодых больных генетические факторы наиболее выражены и имеют особое значение.

Нами изучены полиморфные маркеры генов-кандидатов, связанных с ранним развитием атеросклероза, ИБС и гиперлипидемии, а также участвующих в метаболизме липидов

и статинов, которые могли быть наиболее ассоциированы с эффективностью терапии статинами.

Из исследованных полиморфизмов в нашей работе только три оказались связаны с липидными и нелипидными эффектами аторвастатина. Это полиморфизм A(-290)G гена цитохрома CYP3A4 (CYP3A4), C(-1947)A гена ГМГ-КоА-редуктазы (HMGCR1) и C(-186)T гена аполипопротеина E (APOE).

Цитохром CYP3A4 играет центральную роль в I фазе метаболизма аторвастатина и является самой важной изоформой цитохрома P450 в печени человека, через которую метаболизируется более 50% всех лекарственных препаратов [3]. Ранее в достаточно крупном исследовании (340 больных с дислипидемией) выявлено, что аллель А полиморфного маркера A(-290)G гена цитохрома CYP3A4 ассоциировался с более высоким уровнем ЛНП

после лечения аторвастатином в дозе 10 мг/сут в течение 52 недель. В этом исследовании отмечено, что у пациентов с более высоким исходным уровнем ЛНП после лечения статинами происходит более выраженное снижение ЛНП по сравнению с теми пациентами, кто имел исходно более низкий уровень ЛНП [4]. Максимальная доза аторвастатина в этом исследовании не использовалась. В нашей работе изменение уровня липидов крови и уровня окисления липидов плазмы не было связано ни с одним из генотипов полиморфного маркера A(-290)G гена CYP3A4, при приеме как 10 мг, так и 80 мг аторвастатина в сутки. Однако выявлено, что данный маркер влиял на изменение уровня апоА1. Так, повышение уровня апоА1 было более выраженным у больных с генотипом AA, причем достовернее на фоне приема максимальной дозы аторвастатина. АпоА1 является основным структурным белком ЛВП. Он принимает участие в процессе обратного транспорта холестерина — удалении избытка холестерина из клеток и других циркулирующих липопротеиновых комплексов для возвращения в печень. Соответственно повышение уровня апоА1 должно ассоциироваться с повышением уровня ЛВП, однако в нашем исследовании такой корреляции не отмечено, что, вероятнее всего, не успело проявиться за короткий курс терапии. Следовательно, апоА1 можно рассматривать в качестве маркера «быстрого ответа» на терапию статинами.

Полиморфный маркер G(6986)A гена цитохрома CYP3A5 и полиморфный маркер T(-370)G гена цитохрома CYP2C8 не изучались ранее в качестве предикторов индивидуальной чувствительности к статинам у больных с ранним развитием ИБС, однако и в нашей работе данные полиморфизмы не оказали достоверного влияния на липидные и нелипидные эффекты аторвастатина у больных с ранней ИБС.

Носительство аллеля С полиморфного маркера G(-186)T гена одного из ключевых белков липид-транспортной системы — гена APOE связано с ранним развитием ИБС. Достаточно широко исследовано влияние другого полиморфного маркера E2/E3/E4 гена ApoE на эффективность терапии статинами [5–11]. Подобные исследования промоторного полиморфного маркера G(-186)T ранее не проводились. Нами впервые была выявлена ассоциация генотипа CC полиморфного маркера C(-186)T гена APOE с достоверно более выраженным снижением уровней ХС и ЛНП на фоне приема 10 мг/сут аторвастатина по сравнению с генотипами TT и TC, однако повышение дозы аторвастатина до 80 мг/сут привело к нивелированию влияния генотипов на уровни липидов, что можно объяснить отсутствием дозозависимого эффекта генотипа.

Полиморфный маркер I/D гена ApoB ассоциируется с повышенным риском развития атеросклероза, раннего развития ИБС и гиперлипидемии [12–15]. Изучение влияния данного полиморфизма на эффективность терапии статинами у больных с ранней ИБС проводилось впервые. Нами не выявлена взаимосвязь полиморфного маркера I/D гена ApoB с липидными и нелипидными эффектами аторвастатина.

ГМГ-КоА-редуктаза — основной фермент в метаболизме липидов. Ранее исследований в области влияния генотипов полиморфного маркера C(-1947)A гена HMGCR1 на эффекты статинов не проводилось. В нашей работе впервые установлена ассоциация генотипа CC с

более выраженным повышением уровня окислительной устойчивости плазмы на фоне приема максимальной дозы аторвастатина по сравнению с генотипами AA и AC, в то время как на фоне приема 10 мг/сут аторвастатина различия в снижении уровня МДА между носителями различных генотипов оказались недостоверными. Заслуживает внимания тот факт, что не у всех больных повышение окислительной устойчивости плазмы коррелировало со снижением уровня липидов, что подтверждает нелипидный характер этого показателя. Увеличение окислительной устойчивости ЛНП (при медь-индуцированном окислении) на фоне коротких курсов терапии статинами показано в единичных исследованиях у больных сахарным диабетом 2 типа и нормохолестеринемией [16]. Быстрый, независимый от липидной составляющей клинический эффект статинов связывают с их антиоксидантными свойствами и положительным влиянием на состояние оксидативного стресса, эндотелиальную дисфункцию, физико-химические свойства липопротеинов. Показатель окислительной устойчивости плазмы является информативным критерием соотношения окислительных и антиокислительных процессов в периферической крови больных ИБС. Как правило, одновременно с этим параметром у больных ИБС снижаются окислительная устойчивость ЛВП и их холестерин-акцепторные свойства. Эти биохимические показатели могут применяться у больных ИБС для оценки активности свободнорадикальных процессов и их коррекции препаратами с антиоксидантными свойствами, включая статины. Нами показано, что аторвастатин в краткосрочном исследовании оказывает дозозависимый антиоксидантный эффект с увеличением окислительной устойчивости плазмы лишь на фоне максимальной дозы (80 мг/сут).

Выработка свободных радикалов постоянно происходит во всех клетках организма. Однако нарушение баланса между скоростью их появления и нейтрализацией может иметь значение для развития атеросклероза и его осложнений. Супероксиддисмутаза является основными ферментами, обеспечивающими инактивацию супероксидных радикалов в организме, что делает этот фермент интересным для изучения в связи с возможной ролью в развитии атеросклероза. Нами изучен полиморфный маркер Ala(-9)Val гена SOD2 в качестве предиктора ответа на терапию статинами у больных с ранним развитием ИБС. Подобных исследований ранее не проводилось, однако и в нашей работе данный полиморфизм не оказывал влияния на индивидуальную чувствительность к статинам.

Другой фермент системы антиоксидантной защиты — каталаза. Исследования связи полиморфизма T(-262)C гена CAT с эффектами статинов у больных с ИБС ранее не проводилось. Значимой ассоциации полиморфного маркера T(-262)C гена CAT с разными эффектами аторвастатина у больных с ранним развитием ИБС в нашей работе не обнаружено.

В нескольких исследованиях было показано, что аллель 447Ter полиморфного маркера Ser447Ter гена LPL оказывает протективное влияние в отношении ишемического инсульта и ИБС, в том числе в группе очень пожилых людей, а также достоверно связан с повышенным уровнем ЛВП и снижением уровня ТГ [17–19]. Однако изучения связи данного полиморфного маркера с влиянием на вариабельность эффектов статинов ранее не

проводилось. Нами также не выявлено достоверной связи полиморфного маркера Ser447Ter гена LPL с различными эффектами статинов.

Наиболее широко изучаемой мутацией в гене фактора V является так называемая Лейденовская мутация, которой соответствует аминокислотный полиморфизм Arg/Gln в положении 506 полипептидной цепи. У лиц, имеющих такую мутацию, развивается феномен «устойчивости к протеину С». Эта мутация часто является причиной наследственных тромбофилий. Несмотря на малую частоту встречаемости этой мутации, было установлено, что носители генотипа TT промоторного полиморфного маркера C(-426)T гена F5 имеют повышенный риск развития ИБС и ИМ в молодом возрасте. Исследование ассоциации с вариабельностью эффектов статинов данного полиморфного маркера проводилось впервые в нашей работе, однако достоверная взаимосвязь не была обнаружена.

Другие полиморфные маркеры генов факторов гемостаза, изученные в нашей работе, также не продемонстрировали своего влияния на вариабельность эффектов статинов. Это касается полиморфизма гена фактора VII (полиморфный маркер G73A). В литературе имеется сообщение только об одном исследовании по изучению полиморфного маркера G73A гена фактора VII, в котором носительство аллеля A73 ассоциировалось с низкими уровнями фактора VII, что вероятнее всего приводило к снижению риска ИМ в возрасте до 45 лет [20].

Нами также не получено данных об ассоциации полиморфного маркера G(-455)A гена фибриногена с вариабельностью эффектов статинов у больных с развитием ИБС в молодом возрасте. Генотип AA полиморфного маркера G(-455)A гена FGB ассоциирован с достоверно большим прогрессированием заболевания коронарных артерий, однако у пациентов, получавших правастатин, эффект генотипа нивелировался [21]. В литературе отсутствуют данные об исследовании влияния данного полиморфного маркера на действия статинов у больных с ранним развитием ИБС.

Встречаются сведения, что распространенность аллеля 4G полиморфного маркера 4G/5G гена PAI-1 значительно выше у пациентов с ИМ в возрасте до 45, чем у людей такого же возраста из общей популяции, а увеличение активности PAI-1 часто встречается у пациентов с ИБС и ассоциируются с ИМ в проспективных исследованиях. В то же время в более крупных исследованиях ESTIM (Enquete Cas-Temoins de L'Infarctus du Myocarde) и PHS (Physicians' Health Study) не подтверждена связь этого полиморфного маркера с развитием ИМ [22–25]. Изучение ассоциации полиморфного маркера 4G/5G гена PAI-1 с вариабельностью действия статинов у больных с ИБС ранее не проводилось. Нами также не обнаружена достоверность такой ассоциации.

Известно, что наличие аллеля PLA2 полиморфного маркера PLA1PLA2 гена гликопротеина IIIa тромбоцитов ассоциируется с увеличением способности тромбоцитов к агрегации, но данные об аллеле PLA2 полиморфного маркера PLA1PLA2 гена гликопротеина IIIa тромбоцитов как маркере риска ИБС в настоящее время противоречивы. В ряде работ продемонстрирована связь аллеля PLA2 с риском раннего развития ИБС, однако в большом количестве других исследований, проведенных с участием молодых пациентов, не выявлено значимых различий в

распределении аллелей и генотипов данного полиморфного маркера между группой с ранним развитием ИБС и группой контроля [26–30]. Изучение ассоциации данного полиморфизма с вариабельностью действия статинов у больных с ИБС ранее не проводилось. Нами также не получено данных о такой ассоциации.

Еще два полиморфных маркера C(-1654)T и A(-1641)G гена протеина С, изученных нами, ранее не исследовались в качестве маркеров индивидуальной чувствительности к статинам. Таким образом, исследование распределения аллелей и генотипов указанных полиморфных маркеров в нашей работе произведено впервые, но ни один из них не оказался ассоциирован с вариабельностью действия аторвастатина.

Аллель G полиморфного маркера C321G гена PARP1, по данным литературы, ассоциирован с ранним развитием ИБС. Фермент поли (АДФ-рибоза)-полимераза (PARP) играет роль в большом числе биологических процессов [31]. Ранее не изучалась ассоциация этого полиморфизма с индивидуальной чувствительностью к терапии статинами, однако и в нашей работе такая ассоциация не была достоверной.

Носительство аллеля T полиморфного маркера C825T гена GNB3 ассоциируется с гипертензией, гипертрофией левого желудочка и ожирением, а также увеличением активации нейтрофилов и тромбоцитов, которые могут играть роль в разрыве бляшки и развитии ИМ, а также является предиктором склонности к повышенной вазоконстрикции и ишемии миокарда после интракоронарной активации  $\alpha$ 2-адренорецепторов. В ряде работ обнаружена значимая ассоциация полиморфного маркера C825T гена GNB3 с развитием ИБС [32–39]. Однако исследований влияния этого полиморфизма на вариабельность действия статинов ранее не проводилось. В нашей работе не получено данных об ассоциации полиморфного маркера C825T гена протеина G с индивидуальным ответом на терапию аторвастатином.

Аллель G полиморфного маркера AG (T102C) гена HTR2A более часто встречается в группе с ранним развитием ИБС и ИМ [40–42]. Исследование возможной ассоциации полиморфного маркера AG (T102C) гена HTR2A с вариабельностью действия статинов у больных с ИБС ранее не проводилось. Нами также не подтверждена эта ассоциация, как не получено данных о влиянии полиморфного маркера I/D гена SLC6A4 на индивидуальную чувствительность к аторвастатину, что не изучалось ранее.

Повышение уровня гомоцистеина является независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний. В нескольких исследованиях проводилась оценка связи полиморфного маркера C677T гена MTHFR с риском развития ИМ в молодом возрасте, однако результаты противоречивы [43–45]. В нашей работе впервые исследовано распределение аллелей и генотипов полиморфных маркеров C677T и A1298C гена MTHFR и влияние данных полиморфизмов на эффекты статинов у больных с ранним развитием ИБС. При этом не получено данных об ассоциации обоих полиморфных маркеров гена MTHFR с вариабельностью действия аторвастатина.

Итак, в нашей работе подтвержден дозозависимый эффект аторвастатина на липиды крови. Впервые была выявлена ассоциация вариабельности эффектов аторвастатина у больных с ранним развитием ИБС таких генети-



ческих факторов, как полиморфизм промоторной области гена аполипопротеина E и полиморфизм C(-1947)A гена ГМГ-КоА-редуктазы, а также подтверждено влияние генетического полиморфизма C(-186)T гена цитохрома CYP3A4. То есть у больных с ранней ИБС выявлен ряд генотипов, носительство которых заведомо определяет эффективность терапии аторвастатином. Это генотип CC полиморфного маркера C(-186)T гена APOE, ассоциированный с более выраженным снижением ХС и ЛНП, генотип AA полиморфного маркера A(-290)G гена CYP3A4 связан с более высоким повышением уровня апоА1 и генотип CC полиморфного маркера C(-1947)A гена HMGCR1 связан с более выраженным снижением уровня окисления липидов плазмы. Все эти гены играют ключевую роль в метаболизме липидов.

Ограничением нашего исследования является малочисленная группа, а также использование всего лишь одного статина (аторвастатина).

Результаты работы могут быть использованы для планирования многоцентровых исследований, касающихся вклада полиморфизма генов в развитие сердечно-сосудистых заболеваний и вариабельности ответа на лекарственную терапию статинами.

### Литература

1. Sander S. *Genomic medicine and the future of health care. Science.* — 2000. — Vol. 287. — P. 1977–1978.
2. Vesell E.S. *Therapeutic lessons from pharmacogenetics. Ann Intern Med.* — 1997. — Vol. 126. — P. 653–656.
3. Nelson D.R., Kamataki T., Waxman D.J., Guengerich F.P., Estabrook R.W., Feyereisen T. et al. *The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. DNA Cell Biol.* — 1993. — Vol. 12. — P. 1–51.
4. Kajinami K., Brousseau M., Ordovas J., Schaefer E. *Cyp 3A4 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin in primary hypercholesterolemia. Am J Cardiol.* — 2004. — Vol. 93. — P. 104–107.
5. Resch K.L., Ernst E., Matrai A., Paulsen H.F. *Fibrinogen and viscosity as risk factors for subsequent cardiovascular events in stroke survivors. Ann Intern Med.* — 1988. — Vol. 19. — P. 634–636.
6. Nestel P., Simons L., Barter P., Clifton P., Colquhoun D., Hamilton-Craig I. et al. *A comparative study of the efficacy of simvastatin and gemfibrosil in combined hyperlipoproteinemia: Prediction of response by baseline lipids, apoE genotype, lipoprotein(a) and insulin. Atherosclerosis.* — 1997. — Vol. 129. — P. 231–239.
7. Carmena R., Roederer G., Mattloux H., Lussier-Cacan S., Davignon J. *The response to lovastatin treatment in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia is modulated by apolipoprotein E polymorphism. Metabolism.* — 1993. — Vol. 42. — P. 895–901.
8. Ojala J.P., Helve E., Ehnholm C., Aalto-Setälä K., Kontula K.K., Tikkanen M.J. *Effect of apolipoprotein E polymorphism and XbaI polymorphism of apolipoprotein B on response to lovastatin treatment in familial and non-familial hypercholesterolaemia. J Intern Med.* — 1991. — Vol. 230. — P. 397–405.
9. Kniff de P., Stalenhoel A.F., Mol M.J., Gevers Leuven J.A., Smit J., Erkelens D.W. et al. *Influence of apo E polymorphism on the response to simvastatin treatment in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. Atherosclerosis.* — 1990. — Vol. 83. — P. 89–97.
10. Gerdes L.U., Gerdes C., Kervinen K., Savolainen M., Klausen I.C., Hansen P.S. et al. *The apolipoprotein epsilon4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction: a substudy of the Scandinavian Simvastatin Survival Study [In Process Citation]. Circulation.* — 2000. — Vol. 101. — P. 1366–1371.
11. Pedro-Botel J., Schaefer E.J., Bakker-Arkema R.G., Black D.M., Stein E.M., Corella D. et al. *Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner. Atherosclerosis.* — 2001. — Vol. 158. — P. 18–193.
12. Young S.G. *Recent progress in understanding apolipoprotein B. Circulation.* — 1990. — Vol. 82 (5). — P. 1574–1594.
13. Нечаев А.С. *Взаимоотношения между нарушениями в белково-липидных компонентах липопротеинов плазмы крови и выраженностью атеросклероза.* — 1989 г.
14. Genest J.J., Bard J.M., Fruchart J.C., Ordovas J.M., Wilson P.F., Schaefer E.J. *Plasma apolipoprotein A-I, A-II, B, E and C-III containing particles in men with premature coronary artery disease. J Atherosclerosis.* — 1991. — Vol. 90 (2–3). — P. 149–157.
15. Lamarche B., Després J.-P., Moorjani S., Cantin B., Dagenais G.R., Lupien P.-J. *Prevalence of Dyslipidemic Phenotypes in Ischemic Heart Disease (Prospective Results From the Quebec Cardiovascular Study). The American Journal of Cardiology.* — 1995. — P. 75.
16. Oranje W.A., Sels J.P., Rondas-Colbers G.J., Lemmens P.J., Wolffbuttel B.H. *Effect of Atorvastatin on LDL oxidation and antioxidants in normocholesterolemic type 2 diabetic patients. Clin Chim Acta.* — 2001. — Sep 25; Vol. 311 (2). — P. 91–94.
17. Myllykangas L., Polvikoski T., Sulkava R., Notkola I.L., Rastas S., Verkkoniemi A., Tienari P.J., Niinistö L., Hardy J., Perez-Tur J., Kontula K., Haltia M. *Association of lipoprotein lipase Ser447Ter polymorphism with brain infarction: a population-based neuropathological study // Ann Med.* — 2001. — Vol. 33. — № 7. — P. 486–492.
18. Zhao S.P., Tong Q.G., Xiao Z.J., Cheng Y.C., Zhou H.N., Nie S. *The lipoprotein lipase Ser447Ter mutation and risk of stroke in the Chinese // Clin Chim Acta.* — 2003. — Vol. 330. — № 1–2. — P. 161–164.
19. Ассоциация аллеля 447Ter выявлена и с таким фактором риска ИБС, как гипертония. Sass C., Cheng S., Siest G., Visvikis S. *Genetic influences on blood pressure within the Stanislas Cohort // J Hypertens.* — 2004. — Vol. 22. — № 2. — P. 297–304.
20. Peyvandi F., Mannucci P.M., Bucciarelli P., Zeinali S., Akhavan S., Sacchi E., Merlini P.A., Perry D.J. *A novel polymorphism in intron 1a of the human factor VII gene (G73A): study of a healthy Italian population and of 190 young survivors of myocardial infarction // Br J Haematol.* — 2000. — № 108 (2). — P. 247–253.
21. Maat de M.P., Kastelein J.J., Jukema J.W., Zwinderman A.H., Jansen H., Groenemeier B. et al. *—455G/A polymorphism of the beta-fibrinogen gene is associated with the progression of coronary atherosclerosis in symptomatic men: proposed role for acute-phase reaction pattern of fibrinogen. REGRESS group. Arterioscler Thromb Vasc Biol.* — 1998. — Vol. 18. — P. 265–271.
22. Eriksson P., Kallin B., van 't Hooft F.M., Bvenholm P., Hamsten A. *Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction // Proc Natl Acad Sci USA.* — 1995. № 92 (6). — P. 1851–1855.
23. Ye S., Green F.R., Scarabin P.Y., Nicaud V., Bara L., Dawson S.J., Humphries S.E., Evans A., Luc G., Cambou J.P. et al. *The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study // Thromb Haemost.* — 1995. — № 74. — P. 837–841.

И др. авторы.