ISSN 1998-4235. Український неврологічний журнал.— 2016.— № 1.— С. 21—25.

УДК 616.831-005.4-056.1-07

Н. В. ЛИТВИНЕНКО, О. Є. ПАЛЄНКА

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Полтава

Поліморфізм гена apoE, ліпідний профіль та психодіагностичний статус у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію

Мета — вивчити зв'язок поліморфізму гена аполіпопротеїну Е (apoE) з показниками ліпідного профілю та психодіагностичного статусу у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію (ДЕ).

Матеріали і методи. Проведено комплексне клініко-психодіагностичне, біохімічне, генетичне дослідження 80 хворих на ДЕ II стадії, які перебували на стаціонарному лікуванні в неврологічному відділенні Полтавської обласної клінічної лікарні імені М.В. Скліфосовського протягом 2013—2014 рр.

Результати. Генотипування поліморфізму гена apoE виявило найпоширеніший генотип — ε3/ε2 (у 58 (72,5 %) осіб). Генотип ε4/ε3 зареєстровано у 12 (15 %) осіб, генотип ε3/ε3 — у 6 (7,5 %). У групах хворих із генотипом ε3/ε3 та ε3/ε2 переважали особи жіночої статі, в групі з генотипом ε4/ε3 — чоловічої статі. Пацієнти всіх груп не мали вірогідних відмінностей за віком. В усіх групах індекс маси тіла перевищував 30 кг/м^2, що свідчило про наявність ожиріння. Найвищий показник зафіксовано у хворих з генотипом ε3/ε3, максимальну концентрацію загального холестерину і тригліцеридів — у пацієнтів з генотипом ε4/ε3.

Висновки. У хворих на ДЕ установлено переважання генотипу ε3/ε2 (72,5 %). Пацієнти з генотипами ε3/ε3 та ε4/ε3 мали вірогідно вищі значення маси тіла, обводу талії, співвідношення обводу талії та стегон, індексу маси тіла порівняно з пацієнтами з генотипом ε3/ε2. Концентрація загального холестерину і тригліцеридів була вірогідно вищою у пацієнтів із генотипом ε4/ε3. За даними тесту MMSE у пацієнтів усіх груп установлено легкі когнітивні порушення. Вірогідне зниження короткочасної і тривалої пам'яті виявлено у хворих з генотипом ε3/ε2, посилення особистісної тривожності — у хворих з генотипом ε3/ε3.

Ключові слова: аполіпопротеїн Е, ген аполіпопротеїну Е, алелі ε2, ε3, ε4, поліморфізм, ліпідний профіль, когнітивні розлади.

Відомо, що на виникнення кардіоваскулярних захворювань впливає багато чинників ризику, серед них переважають гіперліпідемія, артеріальна гіпертензія, генетичні порушення [5]. В патогенезі дисциркуляторної енцефалопатії (ДЕ) важливе значення мають гіпертонічна хвороба та атеросклероз, які пов'язані з ліпідним обміном. Аполіпопротеїн Е (apoE) відіграє провідну роль у регуляції ліпідного обміну та транспорті холестерину, забезпеченні сталого рівня холестерину і тригліцеридів у крові. ApoE — це білок з молекулярною масою 34 кДа, який складається з 299 амінокислот, входить до складу ліпопротеїнів плазми різних класів [2]. Основна функція apoE — видалення ліпопротеїнів і підтримка гомеостазу ліпідів в організмі. Встановлено, що apoE бере безпосередню участь у синтезі низки ліпопротеїнів, тому відхилення вмісту apoE від норми супроводжуються дисліпідеміями.

Є три основні ізоформи білка apoE, які відрізняються за наявністю аргініну чи цистеїну в 112-й та 158-й позиції амінокислотної послідовності: E3 (Cys112/Arg158), E4 (Arg112/Arg158) і E2 (Cys112/Cys158) [4]. Поліморфізм гена apoE представлений 3 алелями (ε2, ε3 і ε4) і фенотипно реалізується у вигляді 3 ізоформ білка (E2, E3 і E4), які мають різну спорідненість до рецепторів. Найпоширенішим у нормоліпідемічній популяції людей є алель ε3 (70—80 %). Алель ε2 пов'язаний з гіперліпопротеїнемією

© Н. В. Литвиненко, О. Є. Палєнка, 2016

Стаття надійшла до редакції 30 листопада 2015 р.

Литвиненко Наталія Володимирівна, д. мед. н., проф., зав. кафедри
36024, м. Полтава, вул. Шевченка, 23
Тел. (5322) 249-05. E-mail: neurology@mail.ru

III типу і підвищеним ризиком розвитку атеросклерозу, алель ε4 — з підвищеним рівнем холестерину в крові, затримкою регенерації нейронів, зниженням метаболізму глюкози в мозку [6]. За даними масштабних популяційних досліджень, частота поліморфних маркерів ε2, ε3 і ε4 гена apoE в європейській популяції становить відповідно 7, 77 і 15 % [7]. Однак досі залишається дискусійним питання щодо частоти алельних поліморфізмів ε2, ε3, ε4 гена apoE, асоціації різних генотипів apoE з характером ліпідного метаболізму та когнітивним статусом у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію (ДЕ).

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри нервових хвороб з нейрохірургією та медичною генетикою ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» на тему «Оптимізація та патогенетичне обґрунтування методів діагностики та лікування судинних і нейродегенеративних захворювань нервової системи з урахуванням клініко-гемодинамічних, гормональних, метаболічних, генетичних та імунозапальних чинників» (№ державної реєстрації 0111U006303).

Мета роботи — вивчити зв'язок поліморфізму гена *apoE* з показниками ліпідного профілю та психодіагностичного статусу у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію.

Матеріали і методи

Проведено комплексне клініко-психодіагностичне обстеження 80 пацієнтів із ДЕ II стадії, які перебували на стаціонарному лікуванні в неврологічному відділенні Полтавської обласної клінічної лікарні ім. М. В. Скліфосовського протягом 2013—2014 рр. ДЕ діагностували за загальноприйнятими класифікаціями та методичними рекомендаціями [1]. Учасники дослідження не брали участі в будь-яких дієтичних чи фізичних програмах. Усі пацієнти підписали інформовану згоду. Протокол дослідження схвалено локальною етичною комісією.

Усім хворим проводили фізикальне та антропометричне дослідження: визначення зросту, маси тіла, обводу талії (ОТ) та стегон (ОС) з розрахунком індексу маси тіла (ІМТ) і співвідношення ОТ : ОС.

Психодіагностичне обстеження виконували за допомогою короткої шкали оцінки загальної когнітивної продуктивності MMSE (Mini Mental State Examinatin). Оцінка даних тесту MMSE: 28—30 балів — немає когнітивних порушень, 24—27 балів — переддементні порушення, 20—23 бали — деменція легкого ступеня, 11—19 балів — деменція помірного ступеня, 0—10 балів — тяжка деменція. Усім пацієнтам проведено тестування за методикою Ч. Д. Спілбергера в модифікації Ю. Л. Ханіна (визначення тривожності), обстеження за шкалою Бека (виявлення депресивного стану) та за методикою запам'ятовування 10 слів А. Р. Лурії (оцінка короткочасної та тривалої пам'яті) [3].

Для визначення показників ліпідограми (концентрації загального холестерину (ХС), ліпопротеїнів високої густини (ХС ЛПВГ), ліпопротеїнів низької густини (ХС ЛПНГ), тригліцеридів (ТГ)) проводили забір венозної крові натще з обробкою на автоматичному біохімічному аналізаторі Sapphire 400 (Японія).

Молекулярно-генетичний аналіз зразків крові для визначення поліморфізму гена apoE здійснено в лабораторії ООО «Гентрис ЛТД» (м. Полтава, ліцензія МОЗ України АГ № 597065). Генотипування поліморфізмів гена *apoE* (112C/T і 158C/T з номерами бази SNP rs429358 і rs7412 відповідно) виконували методом полімеразної ланцюгової реакції шляхом визначення частоти найпоширеніших алельних варіантів: ε2 (Cys112, Cys158), ε3 (Cys112, Arg158) і ε4 (Arg112, Arg158). Для аналізу використано модифіковану методику дослідження ділянки гена *apoE*, на якій розташовані два однонуклеотидних поліморфізми [8]. Завдяки подібності нуклеотидних поліморфізмів у позиціях 112C/T і 158C/T спосіб передбачав одночасне визначення алельних варіантів ε2, ε3 і ε4, шляхом рестриктного аналізу ендонуклеазою Hha I (GCG↓C) обраної ділянки гена *apoE*, попередньо ампліфікованого за допомогою полімеразної ланцюгової реакції.

Електрофоретичне розділення фрагментів ДНК попередньо ампліфікованого гена *apoE* виконували у 2 % агарозному гелі протягом 2 год при силі струму 30—50 мА в електрофорезному трисборатному буфері. Розміри фрагментів ДНК визначали з використанням маркера молекулярної маси ДНК pUC19 (MBI Fermentas, Литва). Після закінчення електрофорезу гель фарбували розчином бромистого етидію, переглядали на трансілюмінаторі. Фіксували результати за допомогою цифрової камери.

Отримані кількісні показники обробляли методами математичної статистики з розрахунком середнього значення (M), дисперсії (υ) та похибки середнього арифметичного значення (m). Вірогідність відмінностей отриманих результатів визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. Значущими вважали відмінності показників при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

За результатами дослідження поліморфізму гена *apoE* хворих на ДЕ було розподілено на три групи: перша група — 6 (7,5 %) осіб з генотипом ε3/ε3, друга група — 58 (74,5 %) осіб з генотипом ε3/ε2, третя група — 12 (15 %) осіб з генотипом ε4/ε3. В 1 (1,25 %) хворого виявлено генотип ε2/ε2, у 3 (3,75 %) — генотип ε4/ε2, їх не було виділено в окремі групи. Середній вік пацієнтів 1-ї групи — (53,83 ± 2,77) року, 2-ї групи — (55,67 ± 0,79) року, 3-ї групи — (55,58 ± 2,16) року (відмінності між групами статистично не значущі).

Характеристику груп наведено в табл. 1.

При порівнянні демографічних показників у групах хворих установлено, що в першій та другій групах переважали особи жіночої статі, в третій групі — особи чоловічої статі. Між групами не було вірогідних відмінностей за віком. Більшість пацієнтів другої

та третьої груп були мешканцями міста. В другій і третій групах було більше неодружених пацієнтів.

У другій групі хворих зафіксовано найнижчі значення маси тіла та ОТ порівняно з першою і третьою групою, вірогідно менший ОС та ІМТ порівняно з першою групою хворих (табл. 2). В усіх групах ІМТ перевищував 30 кг/м^2, що свідчило про наявність ожиріння. Найвищий показник спостерігали у пацієнтів першої групи.

Між групами не виявлено вірогідних відмінностей за зростом. Хворі першої та третьої груп мали більші значення маси тіла, ОТ, відношення ОТ/ОС порівняно з пацієнтами другої групи.

Аналіз показників ліпідограми виявив максимальну концентрацію загального холестерину і тригліцеридів у пацієнтів третьої групи (табл. 3).

Результати психодіагностичного обстеження свідчать про відсутність вірогідних відмінностей між групами за середньою оцінкою за MMSE (загальна когнітивна продуктивність), пробою Шульте (увага), шкалою Бека (депресія) і тесту Спілбергера — Ханіна (реактивна тривожність) (табл. 4). За сумою балів тесту MMSE у всіх групах пацієнтів встановлено легкі когнітивні порушення. У другій групі виявлено вірогідно нижчі показники короткочасної і тривалої пам'яті.

Висновки

Генотип ε3/ε3 у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію асоціювався з переважанням осіб жіночої статі, ожирінням (збільшення маси тіла, обводу талії та стегон, індексу маси тіла) без віро-

Таблиця 1

Демографічні показники хворих на дисциркуляторну енцефалопатію залежно від генотипу apoE, %

Показник	1-ша група (n = 6)	2-га група (n = 58)	3-тя група (n = 12)
Чоловіки	16,7	20,69	58,33*#
Жінки	83,3	79,31	41,67*#
Середній вік (M ± m), роки	53,83 ± 2,77	55,67 ± 0,79	55,58 ± 2,16
Мешканці міста	50,0	72,41*	58,33
Мешканці сільської місцевості	50,0	27,59*	41,67
Одружені	100	82,76*	75*
Неодружені	0	17,24*	25*

*Різниця статистично значуща (p < 0,05): * щодо першої групи; # щодо другої групи.*

Таблиця 2

Антропометричні показники хворих на дисциркуляторну енцефалопатію залежно від генотипу apoE (M ± m)

Показник	1-ша група (n = 6)	2-га група (n = 58)	3-тя група (n = 12)
Зріст, см	165,33 ± 4,48	161,06 ± 2,96	160,38 ± 14,73
Маса тіла, кг	103,50 ± 6,43	88,49 ± 1,85*	104,08 ± 5,39#
Обвід талії, см	114,33 ± 5,60	103,03 ± 1,51*	114,58 ± 2,33#
Обвід стегон, см	122,83 ± 2,30	115,62 ± 1,27*	114,58 ± 2,33*
Обвід талії/обвід стегон	0,93 ± 0,04	0,90 ± 0,01	0,98 ± 0,03#
Індекс маси тіла, кг/м^2	37,75 ± 1,22	33,00 ± 0,65*	34,54 ± 0,95*

*Різниця статистично значуща (p < 0,05): * щодо першої групи; # щодо другої групи.*

Таблиця 3

Показники ліпідограми у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію залежно від генотипу гена apoE (M ± m)

Показник	1-ша група (n = 6)	2-га група (n = 58)	3-тя група (n = 12)
Загальний холестерин, ммоль/л	6,02 ± 0,37	6,08 ± 0,16	6,73 ± 0,33#
Тригліцериди, ммоль/л	1,89 ± 0,17	1,95 ± 0,17	2,79 ± 0,62 *#
ХС ЛПВГ, ммоль/л	1,17 ± 0,08	1,30 ± 0,04	1,24 ± 0,08
ХС ЛПНГ, ммоль/л	4,15 ± 0,40	3,95 ± 0,13	4,10 ± 0,22
Індекс атерогенності	4,42 ± 0,30	4,14 ± 0,11	4,57 ± 0,24

*Різниця статистично значуща (p < 0,05): * щодо першої групи; # щодо другої групи.*

Таблиця 4

Результати психодіагностичного обстеження хворих на дисциркуляторну енцефалопатію залежно від генотипу apoE (M ± m)

Показник	1-ша група (n = 6)	2-га група (n = 58)	3-тя група (n = 12)
MMSE, бали	27,33 ± 0,33	27,01 ± 0,12	27,00 ± 0,30
Проба Шульте, с	45,00 ± 3,65	47,37 ± 1,25	47,50 ± 3,99
Тест 10 слів (короткочасна пам'ять), %	82,50 ± 1,71	75,17 ± 2,02*	80,83 ± 2,60**
Тривала пам'ять, %	77,33 ± 5,11	63,44 ± 2,22*	69,58 ± 3,51**
Шкала депресії Бека, бали	12,00 ± 3,79	11,29 ± 0,85	10,25 ± 0,97
Реактивна тривожність, бали	32,50 ± 3,60	29,60 ± 0,82	27,92 ± 1,44
Особистісна тривожність, бали	52,67 ± 2,07	46,74 ± 1,34*	43,41 ± 2,10*

*Різниця статистично значуща (p < 0,05): * щодо першої групи; # щодо другої групи.*

гідних відмінностей за показниками ліпідограми, а також з легкими когнітивними розладами та підвищеною особистісною тривожністю.

Генотип ε3/ε2 виявлено в більшості хворих на дисциркуляторну енцефалопатію (72,5 %). Він асоціювався з переважанням осіб жіночої статі, найнижчими значеннями маси тіла, обводу талії та стегон, індексу маси тіла без вірогідних відмінностей за показниками ліпідограми, а також з легкою когнітивною дисфункцією, найбільшим зниженням короткочасної і тривалої пам'яті.

Генотип ε4/ε3 у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію асоціювався з переважанням осіб чоловічої статі, ожирінням, зростанням вмісту в крові загального холестерину і тригліцеридів та легкими когнітивними розладами.

Література

1. Волошин П. В., Мищенко Т. С. К вопросу о классификации сосудистых заболеваний головного мозга // Укр. вісн. психоневрол. — 2002. — Т. 10, вип. 2 (31). — С. 12—17.
2. Кроненберг Г. М., Мелмед Ш.. Эндокринология по Вильямсу. Ожирение и нарушения липидного обмена. — М.: Рід Елсівер, 2010. — 253 с.
3. Михайлов Б. В., Сердюк А. И., Федосеев В. А. Психотерапия в общесоматической медицине: Клиническое руководство. — Харьков, 2002. — 108 с.
4. Arbones-Mainar J. M., Johnson L. A., Altenburg M. K. et al. Differential modulation of diet-induced obesity and adipocyte functionality by human apolipoprotein E3 and E4 in mice // Int. J. Obes. — 2010. — Vol. 32, N 10. — P. 1595—1605.
5. Brunzell J., Davidson M., Furberg C. et al. Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: Consensus Conference Report From the American Diabetes Association and the American College of Cardiology Foundation // J. Am. Coll. Cardiol. — 2008. — Vol. 51. — P. 1512—1524.
6. Lee D. J., Kim K. M., Kim B. T. et al. ApoE polymorphism may determine low-density lipoprotein cholesterol level in association with obesity and metabolic syndrome in postmenopausal Korean women // Yonsei Med. J. — 2011. — Vol. 52, N 3. — P. 429—434.
6. Teusink B., Mensenkamp A., van der Boom H. et al. Stimulation of the in vivo production of very low density lipoproteins by apolipoprotein E is independent of the presence of the low density lipoprotein receptor // Yonsei Med. J. — 2001. — Vol. 276, N 44. — P. 40693—40697.
7. Walsh P. S., Metzger D. A., Higuchi R. Chelex 100 as a medium for extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material // BioTechniques. — 1991. — Vol. 10. — P. 506—513.

Н. В. ЛИТВИНЕНКО, Е. Е. ПАЛЕНКА

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава

Полиморфизм гена apoE, липидный профиль и психодиагностический статус у больных дисциркуляторной энцефалопатией

Цель — изучить связь полиморфизма гена аполипопротеина Е (apoE) с показателями липидного профиля и психодиагностического статуса у больных дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭ).

Материалы и методы. Проведено комплексное клинико-психодиагностическое, биохимическое и генетическое исследование у 80 больных ДЭ II стадии, которые находились на стационарном лечении в неврологическом отделении Полтавской областной клинической больницы им. Н. В. Склифосовского в течение 2013—2014 гг.

Результаты. Генотипирование полиморфизма гена apoE выявило наиболее распространенный генотип — ε3/ε2 (у 58 (72,5%) лиц). Генотип ε4/ε3 зарегистрирован у 12 (15%) пациентов, генотип ε3/ε3 — у 6 (7,5%). При сравнении демографических показателей в группах больных с генотипом ε3/ε3 и ε3/ε2 выявлено преобладание лиц женского пола, в группе с генотипом ε4/ε3 — мужского пола. Пациенты всех групп не имели достоверных различий в возрасте. Во всех группах индекс массы тела превышал 30 кг/м^2, что свидетельствует о наличии ожирения. Наиболее высокий показатель зафиксирован у больных с генотипом ε3/ε3, максимальная концентрация общего холестерина и триглициридов в крови — у пациентов с генотипом ε4/ε3.

Выводы. У больных ДЭ установлено преобладание генотипа ε3/ε2 (72,5%), Пациенты с генотипами ε3/ε3 и ε4/ε3 имели достоверно более высокие значения массы тела, окружности талии, соотношения окружности талии и бедер, индекс массы тела по сравнению с пациентами с генотипом ε3/ε2. Концентрация общего холестерина и триглицеридов были достоверно выше у пациентов с генотипом ε4/ε3. По данным теста MMSE у пациентов всех групп установлены легкие когнитивные нарушения. Достоверное снижение кратковременной и долговременной памяти выявлено у больных с генотипом ε3/ε2, усиление личностной тревожности — у больных с генотипом ε3/ε3.

Ключевые слова: аполипопротеин Е, ген аполипопротеина Е, аллели ε2, ε3, ε4, полиморфизм, липидный профиль, когнитивные расстройства.

N. V. LYTVYNENKO, O. Ye. PALYENKA

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

ApoE gene polymorphism, lipid profile and psychodiagnostic status in patients with dyscirculatory encephalopathy

Objective — to study the association of polymorphism of apolipoprotein E gene (apoE) with lipid profile and psycho-diagnostic status of patients with dyscirculatory encephalopathy.

Methods and subjects. A comprehensive clinical, psychodiagnostic, biochemical and genetic study of 80 patients with dyscirculatory encephalopathy was performed during 2013—2014 at Poltava region hospital named after N. V. Sklifosovskiy.

Results. Genotyping of polymorphism of ApoE gene revealed the most common genotype 3ε3/ε2 (58 patients (72.5%)). ε4/ε3 genotype was registered in 12 patients (15%), genotype ε3/ε3 6 people (7, 5%). When comparing the demographic variables in groups of patients with the genotype ε3/ε3 andε3/ε2 the female prevalence was revealed, ε4/ε3 genotype was mostly determined in males. Patients of all groups had no significant age differences. In all three groups patients had a BMI greater than 30 kg/m2, which indicates the presence of obesity. At the ε3/ε3 genotype patients demonstrated the highest rate. The maximum total cholesterol and triglycerides rate in blood was in patients with ε4/ε3 genotype.

Conclusions. Genotype ε3/ε2 (72.5%) was presented at the predominant number of patients. Genotype ε3/ε3 and ε4/ε3 demonstrated high rate of BMI, waist volume, hips and waist volume correlation comparing with genotype ε3/ε2. The maximum total cholesterol and triglycerides rate in blood was in patients with ε4/ε3 genotype . In accordance with MMSE test patients of all groups suffered from mild cognitive impairments. Evidenced decrease in the short and long memory as revealed in genotype ε3/ε2 patients, elevated level of personal anxiety was observed in genotype ε3/ε3 patients.

Key words: apolipoprotein E, gene apolipoprotein E, allele ε2, ε3, ε4, polymorphism, lipid profile, cognitive impairments.