

Связь полиморфных вариантов rs6842241 гена *EDNRA* и rs9818870 гена *MRAS* с предрасположенностью к ишемической болезни сердца и их влияние на гиполипидемическое действие розувастатина

Кононов С. И., Азарова Ю. Э., Клёсова Е. Ю., Быканова М. А., Солодилова М. А., Полоников А. В.

Цель. Изучить влияние полиморфных вариантов генов *EDNRA* (rs6842241) и *MRAS* (rs9818870) на гиполипидемическое действие розувастатина у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца (ИБС), а также определить роль данных локусов в развитии ИБС среди жителей Центральной России.

Материал и методы. В фармакогенетическом исследовании участвовали 116 пациентов с ИБС: стабильной стенокардией напряжения II-III функциональных классов. Пациенты получали розувастатин с титрованием дозы до достижения целевых значений холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП). В генетико-эпидемиологическое исследование были включены образцы ДНК 1960 жителей Центральной России (из них 1261 пациент с ИБС и 699 здоровых лиц). Генотипирование полиморфных вариантов выполнялось на геномном масс-спектрометре MassARRAY-4. Ассоциации полиморфизмов с динамикой изменения липидов за 1, 6 и 12 мес. наблюдения рассчитывались методом линейного регрессионного анализа с поправкой на пол, возраст, индекс массы тела и дозу розувастатина; ассоциации с риском развития ИБС — методом логистического регрессионного анализа с поправкой на пол и возраст. Статистическая значимость ассоциаций рассчитывалась с использованием пермутационного теста.

Результаты. Носительство генотипов AA и CA rs6842241 гена *EDNRA* было связано с ослаблением гиполипидемического действия розувастатина в отношении общего холестерина ($\beta=0,075$, $p=0,001$) и ХС ЛНП ($\beta=0,145$, $p=0,017$) по итогам первого месяца, а также 12 мес. терапии ($\beta=0,049$, $p=0,013$ и $\beta=0,072$, $p=0,040$, соответственно). Носительство генотипа AA rs6842241 гена *EDNRA* было связано с повышением риска развития ИБС (отношение шансов 5,36; 95% доверительный интервал: 1,62-17,71, $p=0,004$). rs9818870 гена *MRAS* не был связан ни с фармакогенетикой розувастатина, ни с риском развития ИБС. Оба полиморфных варианта не были ассоциированы с уровнями липидов вне гиполипидемической терапии, а также с динамикой изменения триглицеридов. Динамика холестерина липопротеидов высокой плотности за всё время наблюдения изменялась незначительно.

Заключение. Полиморфный вариант rs6842241 гена *EDNRA* связан как с ослаблением гиполипидемического действия розувастатина у пациентов с ИБС, так и с повышенным риском развития данного заболевания в популяции.

Ключевые слова: розувастатин, *EDNRA*, *MRAS*, фармакогенетика, ишемическая болезнь сердца, липиды.

Отношения и деятельность: нет.

ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России, Курск, Россия.

Кононов С. И.* — к.м.н., ассистент кафедры внутренних болезней № 2, ORCID: 0000-0002-7622-7354, Азарова Ю. Э. — д.м.н., доцент, профессор кафедры биохимии; зав. лабораторией биохимической генетики и метаболизма Научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии, ORCID: 0000-0001-8098-8052, Клёсова Е. Ю. — к.б.н., ассистент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии; м.н.с. лаборатории биохимической генетики и метаболизма Научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии, ORCID: 0000-0002-1543-9230, Быканова М. А. — к.б.н., ассистент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии; н.с. лаборатории геномных исследований Научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии, ORCID: 0000-0001-5420-3557, Солодилова М. А. — д.б.н., доцент, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, ORCID: 0000-0003-4607-4913, Полоников А. В. — д.м.н., профессор, директор Научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, ORCID: 0000-0001-6280-247X.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
ck325@yandex.ru

ИБС — ишемическая болезнь сердца, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, ОХС — общий холестерин, РХВ — равновесие Харди-Вайнберга, ТГ — триглицериды, ТФ — транскрипционный фактор, ХС ЛВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС ЛНП — холестерин липопротеидов низкой плотности.

Рукопись получена 27.06.2024

Рецензия получена 28.08.2024

Принята к публикации 05.09.2024



Для цитирования: Кононов С. И., Азарова Ю. Э., Клёсова Е. Ю., Быканова М. А., Солодилова М. А., Полоников А. В. Связь полиморфных вариантов rs6842241 гена *EDNRA* и rs9818870 гена *MRAS* с предрасположенностью к ишемической болезни сердца и их влияние на гиполипидемическое действие розувастатина. *Российский кардиологический журнал*. 2024;29(10):6026. doi: 10.15829/1560-4071-2024-6026. EDN BKKEXX

Relationship of *EDNRA* rs6842241 and *MRAS* rs9818870 polymorphic variants with predisposition to coronary artery disease and their effect on the lipid-lowering effect of rosuvastatin

Kononov S. I., Azarova Yu. E., Klesova E. Yu., Bykanova M. A., Solodilova M. A., Polonikov A. V.

Aim. To study the effect of *EDNRA* rs6842241 and *MRAS* rs9818870 polymorphic variants on the lipid-lowering effect of rosuvastatin in patients with coronary artery disease (CAD), and to determine the role of these loci in the development of CAD among Central Russia residents.

Material and methods. The pharmacogenetic study involved 116 patients with class II-III stable angina. Patients received rosuvastatin with dose titration to achieve target low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels. The genetic and epidemiological study included DNA samples of 1960 Central Russia residents (1261 patients with CAD and 699 healthy individuals). Genotyping of polymorphic

variants was performed on a MassARRAY-4 genomic mass spectrometer. Associations of polymorphisms with lipid changes for 1, 6 and 12 months of follow-up were calculated using linear regression analysis adjusted for sex, age, body mass index and rosuvastatin dose; associations with CAD risk — using logistic regression analysis adjusted for sex and age. The statistical significance of associations was calculated using the permutation test.

Results. Carriage of the AA and CA genotypes of *EDNRA* rs6842241 variant was associated with a weakening of the rosuvastatin lipid-lowering effect in relation to total cholesterol ($\beta=0,075$, $p=0,001$) and LDL-C ($\beta=0,145$, $p=0,017$) at the end

of the first month and 12 months of therapy ($\beta=0,049$, $p=0,013$ and $\beta=0,072$, $p=0,040$, respectively). Carriage of the AA genotype of *EDNRA* rs6842241 variant was associated with an increased CAD risk (odds ratio 5,36; 95% confidence interval 1,62-17,71, $p=0,004$). *MRAS* rs9818870 variant was not associated with rosuvastatin pharmacogenetics or with the CAD risk. Both polymorphic variants were not associated with lipid levels outside of lipid-lowering therapy, as well as with the triglyceride changes. High-density lipoprotein cholesterol levels during the entire follow-up period changed insignificantly.

Conclusion. The *EDNRA* rs6842241 variant is associated with both a weakening of the lipid-lowering effect of rosuvastatin in CAD and an increased risk of its development in the population.

Keywords: rosuvastatin, *EDNRA*, *MRAS*, pharmacogenetics, coronary artery disease, lipids.

Relationships and Activities: none.

Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

Kononov S. I.* ORCID: 0000-0002-7622-7354, Azarova Yu. E. ORCID: 0000-0001-8098-8052, Klesova E. Yu. ORCID: 0000-0002-1543-9230, Bykanova M. A. ORCID: 0000-0001-5420-3557, Solodilova M. A. ORCID: 0000-0003-4607-4913, Polonikov A. V. ORCID: 0000-0001-6280-247X.

*Corresponding author: ck325@yandex.ru

Received: 27.06.2024 **Revision Received:** 28.08.2024 **Accepted:** 05.09.2024

For citation: Kononov S. I., Azarova Yu. E., Klesova E. Yu., Bykanova M. A., Solodilova M. A., Polonikov A. V. Relationship of *EDNRA* rs6842241 and *MRAS* rs9818870 polymorphic variants with predisposition to coronary artery disease and their effect on the lipid-lowering effect of rosuvastatin. *Russian Journal of Cardiology*. 2024;29(10):6026. doi: 10.15829/1560-4071-2024-6026. EDN BKEXX

Ключевые моменты

- Ишемическая болезнь сердца — многофакторное заболевание с известной генетической предрасположенностью.
- Гиполипидемический ответ на лечение статинами различается в зависимости от генетических факторов (фармакогенетика).
- Полиморфизм гена эндотелинового рецептора типа А способен влиять как на фармакогенетику розувастатина, так и на риск развития ишемической болезни сердца.

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) представляет собой сложное многофакторное заболевание. По данным полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) выявлено >200 ключевых хромосомных локусов, влияющих на риск развития ИБС, в числе которых полиморфные варианты в генах *EDNRA* и *MRAS* [1-3]. Ген *EDNRA* кодирует рецептор типа А к эндотелину — мощному сосудосуживающему фактору. Однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) данного гена по данным полногеномных исследований ассоциированы с сердечно-сосудистой патологией атеросклеротического генеза — кроме ИБС, это заболевание периферических артерий [2, 4]. Продукт гена *MRAS* вовлечен в ключевые механизмы атеросклероза: адгезия лейкоцитов, баланс про- и противовоспалительных цитокинов в сосудистой стенке. Варианты данного гена связаны с изменениями гладкомышечных клеток сосудов и интимы, характерными для атеросклеротического процесса [3].

Ранее нами было показано, что одни и те же полиморфные варианты генов способны влиять как на предрасположенность к развитию ИБС, так и на фармакогенетику розувастатина у лиц, страдающих ИБС [5]. Фармакогенетические ассоциации для связанных

Key messages

- Coronary artery disease is a multifactorial disease with a known genetic predisposition.
- The lipid-lowering response to statin therapy varies depending on genetic factors (pharmacogenetics).
- Polymorphism of the endothelin receptor type A gene can influence both the pharmacogenetics of rosuvastatin and the risk of coronary artery disease.

с ИБС локусов в генах *EDNRA* (rs6842241) и *MRAS* (rs9818870) ранее не исследовались. При этом влияние указанных полиморфизмов на гиполипидемическое действие розувастатина можно рассматривать как потенциально возможное. Так, в эксперименте у крыс и кроликов, получавших флувастатин и аторвастатин в субтерапевтических и терапевтических дозах зарегистрировано снижение экспрессии *EDNRA* [6, 7]. С другой стороны, антагонизм в отношении эндотелиновых рецепторов типа А приводит к снижению уровней холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП) и триглицеридов (ТГ) [8]. Таким образом, связь между эндотелиновым рецептором типа А (*EDNRA*) и статинами, а также между *EDNRA* и липидным спектром, имеет место. Для ряда полиморфных вариантов другого гена — *MRAS*, кроме влияния на риск ИБС, описаны ассоциации с показателями липидного обмена вне фармакогенетики [3].

Таким образом, с учетом связи генов *EDNRA* и *MRAS* и их продуктов с липидным обменом, но отсутствия фармакогенетических исследований данных локусов, целью настоящей работы было изучение влияния ОНП генов *EDNRA* (rs6842241) и *MRAS* (rs9818870) на гиполипидемическое действие розувастатина у пациентов, страдающих ИБС, а также определение роли данных локусов в развитии ИБС среди жителей Центральной России.

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов в группах пациентов с ИБС и контроля

ОНП (ген)	Генотип, аллель	Больные, n (%) [*]	Здоровые, n (%) [*]	ОШ (95% ДИ) [†]	p [§]
Ассоциации с ишемической болезнью сердца					
rs6842241 (<i>EDNRA</i>)	CC	907 (73,4)	525 (76,0)	5,36 (1,62-17,71) [‡]	0,004
	CA	300 (24,3)	163 (23,6)		
	AA	28 (2,3)	3 (0,4)		
		n=1235	n=691		
rs9818870 (<i>MRAS</i>)	A	356 (14,4)	169 (12,2)	1,21 (0,99-1,47)	0,079
	CC	944 (75,7)	503 (72,1)	0,86 (0,71-1,04)	0,095
	CT	281 (22,5)	182 (26,1)		
	TT	22 (1,8)	13 (1,9)		
		n=1247	n=698		
	T	325 (13,0)	208 (14,9)	0,86 (0,71-1,03)	0,098

Примечание: ^{*} — абсолютное число и % индивидов с представленными генотипами или аллелями, [†] — ОШ (95% ДИ) с поправкой на пол и возраст, в надстрочном символе указана генетическая модель (R — рецессивная) с наименьшим значением p, [§] — значение p по данным пермутационного теста.

Сокращения: ДИ — доверительный интервал, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, ОШ — отношение шансов.

Материал и методы

Исследование выполнялось с соблюдением этических норм: Хельсинкской декларации, наличия добровольного информированного согласия на проведение исследования, одобрения Регионального этического комитета Курского государственного медицинского университета (КГМУ).

Описание выборки. В фармакогенетическое исследование включались 116 пациентов, страдающих ИБС: стабильной стенокардией напряжения II-III функциональных классов, подтвержденной клинически в сочетании с нагрузочными тестами (тредмил-тест, велоэргометрия). Пациенты характеризовались дислипидемией, которая определялась как повышение общего холестерина (ОХС) $\geq 4,0$ ммоль/л и ХС ЛНП $\geq 1,8$ ммоль/л, с учетом национальных рекомендаций по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена V пересмотра, действовавших на момент набора материала. Выборка включала 85 мужчин (73%) и 31 женщину в постменопаузе (27%). Средний возраст $61,0 \pm 7,25$ лет. 58% пациентов в прошлом перенесли инфаркт миокарда, фоновая гипертоническая болезнь имела место у 97,5% лиц. Средний индекс массы тела составил $28,8 \pm 4,2$ кг/м². Стартовые уровни липидов (данные в виде медианы (первый; третий квартили)) составили: ОХС 5,28 (4,60; 6,06) ммоль/л, ХС ЛНП 3,27 (2,70; 4,08) ммоль/л, холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП) 1,06 (0,97; 1,29) ммоль/л, ТГ 1,71 (1,22; 2,37) ммоль/л. Для генетико-ассоциативного исследования предрасположенности к ИБС, а также исследования ассоциаций с уровнями липидов вне гиполлипидемической терапии, ранее описанная выборка была расширена за счет образцов ДНК и фенотипических данных пациентов славянского происхождения (самоидентификация), аккумулированных в биобанке

НИИ Генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ, набранных в ранее проводимых генетико-эпидемиологических исследованиях [9]. Суммарный объем выборки составил 1960 лиц (1261 случай, включавший стабильную стенокардию напряжения и постинфарктный кардиосклероз, 699 — контрольная группа), её подробное описание представлено в работе [10].

Дизайн фармакогенетического исследования. Пациенты получали розувастатин в стартовой дозе 5 мг с повышением до 10-20-40 мг при недостижении целевых показателей ХС ЛНП $< 1,8$ ммоль/л, контроль которых проводился каждый месяц. При достижении рекомендованных уровней липидов пациенты продолжали принимать препарат в той дозе, на которой это произошло. В анализ включались уровни липидов по прошествии 1, 6 и 12 мес. наблюдения.

Биохимические исследования. Уровни ОХС, ТГ, ХС ЛВП определялись с помощью автоматических анализаторов "Vitalab Flexor E" (Vital Scientific, Нидерланды), Cobas c 311 (Roche Diagnostics, Германия). Уровни ХС ЛНП рассчитывались по формуле Фридвальда.

Генетико-ассоциативный анализ. Полиморфные варианты rs6842241 гена *EDNRA* и rs9818870 гена *MRAS* отбирались на основании известных полногеномных ассоциаций с предрасположенностью к ИБС [1-3]. Генотипирование ОНП проводилось по технологии iPLEX с помощью геномного масспектрометра MassARRAY-4 (Agena Bioscience, США). Дизайн мультиплексной панели разработан с помощью программного обеспечения MassARRAY Assay Design Suite (<https://agenacx.com>).

Статистический анализ. Распределение липидных показателей отличалось от нормального (по критериям Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка).

Таблица 2

**Ассоциации полиморфных вариантов генов с динамикой изменения ОХС,
ХС ЛНП и ТГ по итогам 1, 6 и 12 мес. терапии розувастатином у пациентов с ИБС**

ОНП (ген)	МА	ЧМА	n	1 мес. терапии		6 мес. терапии		12 мес. терапии	
				β*	p†	β*	p†	β*	p†
Общий холестерин									
rs6842241 (EDNRA)	A	0,180	103	0,075	0,001 ^D	0,030	0,160	0,049	0,013 ^D
rs9818870 (MRAS)	T	0,151	116	0,010	0,155	0,011	0,520	-0,112	0,060
Холестерин липопротеидов низкой плотности									
rs6842241 (EDNRA)	A	0,180	103	0,145	0,017 ^D	0,041	0,281	0,072	0,040 ^D
rs9818870 (MRAS)	T	0,151	116	-0,156	0,247	0,057	0,163	-0,234	0,056
Триглицериды									
rs6842241 (EDNRA)	A	0,180	103	0,814	0,405	-0,945	0,179	-0,183	0,857
rs9818870 (MRAS)	T	0,151	116	0,759	0,412	0,155	0,611	-0,236	0,500

Примечание: * — коэффициент линейной регрессии для разности трансформированных по натуральному логарифму уровней липидов после и до лечения, деленной на трансформированный по натуральному логарифму уровень липидов до лечения. β отражает различие гипополипидемического эффекта между носителями генотипов в соответствии с генетической моделью и носителями альтернативных генотипов. β с "-" знаком отражает лучший ответ на терапию (более выраженное снижение уровней липидов), с "+" знаком — более слабый ответ на терапию. Коэффициенты регрессии получены с помощью линейного регрессионного анализа с поправкой на пол, возраст, индекс массы тела и дозу розувастатина, † — уровень значимости ассоциации по результатам пермутационного теста. В надстрочном символе указана генетическая модель с наилучшей статистической значимостью (D — доминантная).

Сокращения: ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, МА — минорный аллель, ЧМА — частота минорного аллеля, n — число генотипированных образцов ДНК.

Значимость динамики изменения липидов оценивалась по парному критерию Вилкоксона. Соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга (PXB) — точным критерием Фишера. Для определения ассоциаций генотипа и риска развития ИБС использовался логистический регрессионный анализ с поправкой на пол и возраст, для ассоциаций с динамикой липидов (рассчитывалась как отношение разницы трансформированных по натуральному логарифму показателей после лечения и до лечения, деленных на показатель до лечения) — линейный регрессионный анализ с поправкой на пол, возраст, индекс массы тела и дозу розувастатина. Протестированы 3 генетические модели — доминантная, рецессивная, аддитивная. Уровни p сгенерированы с помощью пермутационного (перестановочного) теста с максимальным числом перестановок, равным 1 млн. Проверка на нормальность распределения, описательная статистика, значимость динамики липидов оценена в пакете прикладных программ Statistica 13.3 (TIBCO, США). Регрессионный анализ, пермутационные тесты, соответствие распределения генотипов PXB выполнены в программе PLINK v1.92. Все результаты считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты

Генотипы полиморфных вариантов rs6842241 (*EDNRA*) и rs9818870 (*MRAS*) находились в PXB ($p=0,39$ и $0,85$, соответственно). При оценке влияния полиморфных вариантов на риск развития ИБС (табл. 1) установлено, что повышенный риск болезни наблюдался у гомозигот по вариантному аллелю rs6842241-

АА гена *EDNRA*. Вариант rs9818870 гена *MRAS* не показал связи с риском развития заболевания.

В дальнейшем оценивалась связь полиморфных вариантов с уровнями липидов у пациентов, страдающих ИБС, вне гипополипидемической терапии ($n=218$). Установлено, что ни один из вариантов не был ассоциирован со стартовыми уровнями ОХС ($p=0,14$ и $0,44$ для rs6842241 и rs9818870, соответственно), ХС ЛНП ($p=0,06$ и $0,25$, соответственно), ХС ЛВП ($p=0,55$ и $0,37$, соответственно) и ТГ ($p=0,32$ и $0,39$, соответственно). За время наблюдения терапия розувастатином привела к достижению большинством пациентов ($n=110$, 94,8%) целевого уровня ХС ЛНП. Изменение уровней ОХС, ХС ЛНП и ТГ было статистически значимым по прошествии 1, 6 и 12 мес. наблюдения ($p < 1 \times 10^{-5}$ для всех показателей за указанные периоды измерения). Изменение ХС ЛВП было статистически незначимым ($p=0,42$, $0,16$ и $0,87$, соответственно, для указанных периодов).

Ассоциации исследованных полиморфизмов с динамикой изменения липидов плазмы крови представлены в таблице 2. На рисунке 1 отражены наиболее значимые ассоциации с динамикой изменения ОХС и ХС ЛНП. Ассоциации с динамикой изменения ОХС и ХС ЛНП были обнаружены для полиморфного варианта rs6842241 гена *EDNRA*. По итогам 1 мес. терапии розувастатином носители генотипов СА и АА rs6842241 характеризовались более слабым гипополипидемическим действием исследованного препарата по сравнению с гомозиготами СС по аллелю "дикого" типа, как в отношении ОХС ($p=0,001$), так и в отношении ХС ЛНП ($p=0,017$, табл. 2 и рис. 1). По итогам 6 мес. наблюдения значимых ассоциаций

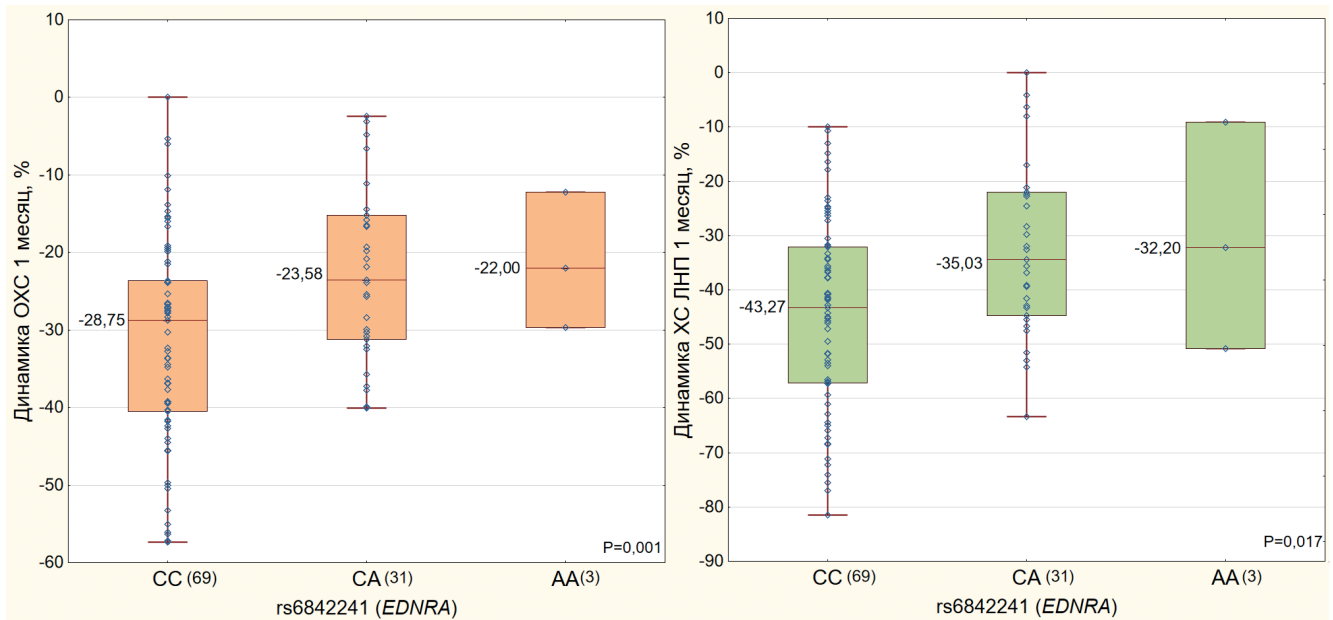


Рис. 1. Динамика изменения уровня ОХС и ХС ЛНП в зависимости от генотипа по полиморфному варианту rs6842241 гена *EDNRA* у пациентов с ИБС в течение первого месяца терапии розувастатином.

Примечание: данные представлены в виде диаграммы размаха ("ящик с усами") нетрансформированных значений Δ (%) ОХС или ХС ЛНП. Горизонтальной чертой отмечена медиана с указанием её значения, верхняя и нижняя границы "ящика" соответствуют 25-му и 75-му квартилям, границы "усов" — минимальному и максимальному значениям. Рядом с генотипом в скобках указано число его носителей. Уровни статистической значимости рассчитаны для трансформированных значений липидов.

не обнаружено, а по итогам 12 мес. повторились ассоциации, обнаруженные за 1 мес. терапии. Так, носители вариантного аллеля А (лица с генотипами АА и СА) rs6842241 вновь продемонстрировали более слабый ответ на терапию розувастатином по сравнению с гомозиготами по аллелю "дикого" типа (доминантная генетическая модель) как в отношении ОХС ($p=0,017$), так и ХС ЛНП ($p=0,040$, табл. 2).

ОНП rs9818870 гена *MRAS* не был ассоциирован с динамикой изменения ОХС и ХС ЛНП, хотя отмечалась тенденция к значимости ($p=0,06$ и $0,056$, соответственно) по итогам 12 мес. терапии (табл. 2). Для обоих исследованных вариантов отсутствовала связь с динамикой изменения ТГ. Ассоциации генотипа с динамикой изменения уровня ХС ЛВП не оценивались ввиду статистически незначимого изменения данного показателя за время терапии.

Обсуждение

В настоящем исследовании впервые установлена ассоциация полиморфного варианта rs6842241 гена *EDNRA* с гипوليлипидемическим действием розувастатина у пациентов с ИБС в отношении как ОХС, так и ХС ЛНП. Носительство редкого аллеля как в гомозиготном (rs6842241-АА), так и в гетерозиготном состоянии (rs6842241-СА) ослабляло эффект препарата, а липиды за время лечения снижались в меньшей степени, чем у гомозигот rs6842241-СС. Указанная направленность гипوليлипидемического эффекта про-

явилась наиболее сильно за начальный период терапии (первый месяц) и сохранилась на протяжении максимального периода наблюдения в 1 год как для ОХС, так и для ХС ЛНП. Кроме того, нами была подтверждена ранее известная по полногеномным исследованиям [1, 2] ассоциация rs6842241 гена *EDNRA* с предрасположенностью к ИБС — гомозиготы по редкому аллелю (АА) в настоящем исследовании характеризовались повышенным более чем в 5 раз шансом заболеть ИБС в сравнении с носителями частого аллеля С. Таким образом, носительство редкого аллеля данного полиморфного варианта имело в обоих случаях негативный эффект: повышая риск заболеть ИБС и снижая эффективность гипوليлипидемической терапии уже при наличии ИБС.

Для определения функционального эффекта полиморфизма rs6842241 гена *EDNRA* проводилось функциональное аннотирование, включающее изучение его связи с изменением экспрессии генов в тканях, т.е. с наличием eQTL (expression Quantitative Trait Loci). ОНП rs6842241 локализован в геноме на расстоянии 2 тыс. пар оснований перед геном *EDNRA* (данные ресурса dbSNP, <https://ncbi.nlm.nih.gov/snp>). Тем не менее, находясь не непосредственно в гене, данный вариант ассоциировался с повышением экспрессии гена *EDNRA* в аорте ($p=0,000034$, данные ресурсов QTLBase, <http://www.mulinlab.org/qtlbase> и GTEx, <https://gtexportal.org>). Можно предположить, что повышение экспрессии мРНК

рецептора к эндотелину способно вызвать повышение экспрессии самих рецепторов (белка), а повышенная экспрессия рецепторов эндотелина, как известно, связана с повреждением эндотелия сосудов, что существенно усугубляет прогрессирование атеросклероза [11]. Предполагаемый выше механизм может объяснять и увеличение риска развития ИБС, однако эта гипотеза требует экспериментального подтверждения.

Другим возможным механизмом, потенциально объясняющим связь исследуемого варианта с исходами, может быть расположение его в области ДНК, способной связывать транскрипционные факторы (ТФ). *In silico* поиск ТФ в области ОНП с помощью биоинформатического инструмента atSNP Search (<http://atsnp.biostat.wisc.edu>) был ограничен уровнем статистической значимости для совпадения последовательности ДНК, с которой взаимодействует ТФ, $<0,005$. В результате анализа в области ОНП rs6842241 гена *EDNRA* обнаружены такие ТФ, как: PBX3, E2F, EGR, GCM, SP1, IKZF1, KLF5, RAD21, CTCF, EBF1. С помощью ресурсов hTFtarget (<https://guolab.wchscu.cn/hTFtarget>) и Harmonizome 3.0 (<https://maayanlab.cloud/Harmonizome>) устанавливалось, является ли ген *EDNRA* мишенью для вышеупомянутых ТФ. Оказалось, что данный ген действительно является мишенью для ТФ E2F4, E2F6, EGR2, EGR3, RAD21, CTCF, EBF1. При этом при носительстве вариантного аллеля rs6842241 для всех указанных ТФ имела место потеря области связывания с ТФ ("потеря мишени"), который уже не способен связаться с данной областью и влиять на экспрессию гена *EDNRA*. Несомненно, представленные данные требуют экспериментального подтверждения. Среди найденных ТФ именно на липидный обмен влияет транскрипционный репрессор CTCF согласно данным ресурса UniProt (<https://www.uniprot.org>). CTCF регулирует экспрессию кластера генов *APOA1/C3/A4/A5* [12], кодирующего аполипопротеины. Ресурс Harmonizome подтверждает, что гены *APOA1*, *APOC3*, *APOA4* и *APOA5* являются мишенями для CTCF. Таким образом, изменения липидного обмена при лечении розувастатином могут быть опосредованы

влиянием полиморфизма rs6842241 и развиваться параллельно с изменением экспрессии гена эндотелина через действие одного и того же ТФ. Для дальнейшего аннотирования rs6842241 оценивалась его связь с эпигенетическим состоянием хроматина в аорте (ресурс HaploReg v4.2, <https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>, данные Roadmap Epigenomics Consortium, 2015). В результате в области ОНП rs6842241 обнаружены гистоновые метки, такие как H3K4me1 и H3K27ac, связанные с энхансерной активностью, а также H3K4me3, связанная с промоторной областью. Эти данные указывают на то, что полиморфный вариант rs6842241 находится в области ДНК, активно регулирующей транскрипцию гена посредством открытия хроматина и связывания с ТФ. Данная информация, наряду с ранее представленной связью полиморфного варианта с изменением экспрессии (eQTL), подтверждает предположение о том, что ассоциация исследуемого полиморфизма с предрасположенностью к развитию ИБС может реализоваться через регуляцию экспрессии гена эндотелинового рецептора типа А.

Ограничения исследования. Молекулярные механизмы, лежащие в основе обнаруженных в настоящем исследовании ассоциаций, предположены исходя из функционального аннотирования ОНП и поэтому требуют дальнейшего экспериментального подтверждения.

Заключение

В настоящем исследовании впервые установлено, что пациенты, страдающие ИБС с генотипом AA и СА полиморфного варианта rs6842241 гена *EDNRA*, характеризуются ослабленным ответом на розувастатин в отношении ОХС и ХС ЛНП по итогам 1 (первого) и 12 мес. терапии. Подтверждена ассоциация rs6842241 с риском развития ИБС. Не установлена связь rs9818870 гена *MRAS* с фармакогенетикой розувастатина и риском развития ИБС.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Lempiäinen H, Brænne I, Michoel T, et al. Network analysis of coronary artery disease risk genes elucidates disease mechanisms and druggable targets. *Sci Rep*. 2018;8(1):3434. doi:10.1038/s41598-018-20721-6.
- van der Harst P, Verweij N. Identification of 64 Novel Genetic Loci Provides an Expanded View on the Genetic Architecture of Coronary Artery Disease. *Circ Res*. 2018;122(3):433-43. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.312086.
- Shah PW, Reinberger T, Hashmi S, et al. MRAS in coronary artery disease-Uncharted territory. *IUBMB Life*. 2024;76(6):300-12. doi:10.1002/iub.2805.
- Matsukura M, Ozaki K, Takahashi A, et al. Genome-Wide Association Study of Peripheral Arterial Disease in a Japanese Population. *PLoS One*. 2015;10(10):e0139262. doi:10.1371/journal.pone.0139262.
- Kononov S, Mal G, Azarova I, et al. Pharmacogenetic loci for rosuvastatin are associated with intima-media thickness change and coronary artery disease risk. *Pharmacogenomics*. 2022;23(1):15-34. doi:10.2217/pgs-2021-0097.
- Janič M, Lunder M, France Štiglic A, et al. Sub-therapeutic doses of fluvastatin and valsartan are more effective than therapeutic doses in providing beneficial cardiovascular pleiotropic effects in rats: A proof of concept study. *Vascu Pharmacol*. 2017;99:45-52. doi:10.1016/j.vph.2017.09.005.
- Lunder M, Drevenšek G, Černe D, et al. Treatment with low-dose atorvastatin, losartan, and their combination increases expression of vasoactive-related genes in rat aortas. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2013;18(2):177-83. doi:10.1177/1074248412463966.
- de Zeeuw D, Coll B, Andress D, et al. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(5):1083-93. doi:10.1681/ASN.2013080830.
- Klyosova EYu, Azarova IE, Sunyaykina OA, et al. Validity of a brief screener for environmental risk factors of age-related diseases using type 2 diabetes and coronary artery disease as examples. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(1):130-7. (In Russ.) Клёсова Е.Ю., Азарова И.Э., Суняйкина О.А. и др. Валидация краткого опросника

- для оценки вклада средовых факторов риска в развитие возраст-зависимых заболеваний на примере сахарного диабета 2 типа и ишемической болезни сердца. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022;8(1):130-7. doi:10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-10.
10. Kononov SI, Azarova YuE, Klyosova EYu, et al. The Protective Effect of Polymorphisms rs2681472 and rs17249754 of the *ATP2B1* Gene Against Coronary Artery Disease and Hypertension is Abolished by Tobacco Smoking. *Kardiologiia*. 2023;63(9):45-50. (In Russ.) Кононов С.И., Азарова Ю.Э., Клесова Е.Ю. и др. Протективный эффект полиморфизмов rs2681472 и rs17249754 в гене *ATP2B1* в отношении ишемической болезни сердца и гипертонической болезни нивелируется курением. *Кардиология*. 2023;63(9):45-50.
11. Barton M, Yanagisawa M. Endothelin: 30 Years From Discovery to Therapy. *Hypertension*. 2019;74(6):1232-65. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12105.
12. Mishiro T, Ishihara K, Hino S, et al. Architectural roles of multiple chromatin insulators at the human apolipoprotein gene cluster. *EMBO J*. 2009;28(9):1234-45. doi:10.1038/emboj.2009.81.