

Влияние комбинированного носительства полиморфизма генов липидтранспортной системы на показатели липидного обмена у больных с коронарным атеросклерозом

А. С. Эшпулатов, Ш. У. Хошимов, Г. Дж. Абдуллаева, А. Б. Шек

АО «Республиканский специализированный центр кардиологии» МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан

Абстракт

Цель исследования. Изучить особенности нарушения липидного обмена в зависимости от комбинированного носительства «ε4»-аллеля ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена аполипопротеина Е (Апо Е) и «S2»-аллеля SstI полиморфизма гена аполипопротеина СIII (Апо СIII) у больных с коронарным атеросклерозом.

Материал и методы. Обследован 141 больной с нестабильной стенокардией и ангиографически подтвержденным коронарным атеросклерозом. Группа сравнения – 50 здоровых лиц. Липидный спектр, аполипопротеины определяли на биохимическом автоанализаторе Daytona (RANDOX, Ирландия). Генотипирование ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена аполипопротеина Е (Апо Е) и SstI полиморфизма гена аполипопротеина СIII (Апо СIII) проводили методом полимеразной цепной реакции в лаборатории функциональной геномики человека Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз с использованием термоциклера PCR Systems 2700 (Applied Biosystems, США) и в лаборатории АГ РСЦК на термоциклере GeneAmp PCR Systems 9700 (Applied Biosystems, США). Коронароангиография выполнялась на установке Allura CV-20 (Philips, Нидерланды).

Результаты. При анализе распределения ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена Апо Е среди больных с коронарным атеросклерозом оказалось достоверно больше носителей аллеля «ε4» – 87 (61,7%), по сравнению со здоровыми лицами – 54 (38,3%) (ОШ 11,82; 95%-ный ДИ 4,7–29,6; $\chi^2 = 34,535$, $p < 0,001$). При сравнительной оценке распределения SstI полиморфизма гена Апо СIII носительство «S2»-аллеля среди больных также наблюдалось достоверно чаще – 51 (27,6%), чем среди здоровых лиц – 9 (18%) (ОШ 2,58; 95%-ный ДИ 1,161–5,740; $\chi^2 = 4,844$, $p < 0,05$). Вышеизложенное послужило основанием для выделения в одну группу пациентов с комбинацией носительства «повреждающих» аллелей: «ε4» и «S2» – 37 больных (I группа) против остальных (II группа) – 104 больных. При сравнительном изучении показателей липидного спектра в I группе больных уровни общего холестерина (ОХС) ($238,0 \pm 54,3$ мг/дл) и холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) ($154,7 \pm 51,5$ мг/дл) достоверно превышали ($p < 0,05$) значения ОХС ($220,6 \pm 39,8$) и ХС ЛПНП ($138,8 \pm 37,6$) во II группе. Одновременно у больных I группы отмечался более низкий уровень холестерина липопротеинов высокой плотности ($34,1 \pm 6,3$, $p < 0,05$) относительно II группы ($36,8 \pm 6,8$). Уровень аполипопротеина В (Апо В) оказался несколько выше ($115,0 \pm 24,9$ мг/дл), а уровень аполипопротеина АI (Апо АI) – ниже ($133,8 \pm 21,3$) в I группе, что обусловило достоверно более высокое значение соотношения Апо В / Апо АI – $0,9 \pm 0,3$ ($p < 0,05$) относительно II группы ($107,0 \pm 25,7$, $139,1 \pm 22,2$ и $0,8 \pm 0,2$) соответственно.

Выводы. Таким образом, носительство аллелей «ε4» ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена Апо Е и «S2» SstI полиморфизма гена Апо СIII является предрасполагающим фактором в развитии коронарного атеросклероза и атерогенной дислипидемии среди узбеков.

Ключевые слова: полиморфизм генов липидтранспортной системы, липиды, аполипопротеины, коронарный атеросклероз.

The influence of lipid transport system genes polymorphism combined carriage on lipid parameters in patients with coronary atherosclerosis

A. S. Eshpulatov, S. U. Hoshimov, G. J. Abdullayeva, A. B. Shek

Republican Specialized Center of Cardiology, Tashkent, Uzbekistan

Abstract

Objective. To study features of lipid metabolism according to the combined carriage of «ε4» allele of the ε2/ε3/ε4 apolipoprotein E (APO E) gen polymorphism and of «S2» allele of the SstI apolipoprotein CIII (APO CIII) gen polymorphism in patients with unstable angina (UA) and coronary atherosclerosis.

Material and methods. 141 patients with UA and coronary atherosclerosis and 50 healthy volunteers were observed. Lipids and apolipoproteins were defined on biochemical autoanalyzer «Daytona» (RANDOX, Ireland). ε2/ε3/ε4 polymorphism of APO E gene and SstI polymorphism of APO CIII gene definition was performed by the restriction fragment length polymorphism polymerase chain reaction (RFLP-PCR) method. Coronary angiography was performed using Allura CV-20 (Philips, Netherlands).

Results. While analysing the frequency distribution of «ε4» allele of APO E gene among UA patients, «ε4» allele carriers were observed more often – 87 (61.7%), in comparison with healthy persons – 54 (38.3%) (OR 11.82; 95% CI 4.7–29.6; $\chi^2 = 34.535$, $p < 0.001$). «S2» allele carriers also prevailed – 51 (27.6%), in comparison with healthy volunteers – 9 (18%) (OR 2.58; 95% CI 1.161–5.740, $\chi^2 = 4.844$, $p < 0.05$). In this connection all patients have been divided into 2 groups: 37 patients (26.2%, I group) with a combination of «damaging» «ε4» and «S2» alleles against the others – 104 patients (73.8%, II group). In I group of patients total cholesterol (TC) (238.0 ± 54.3) and low density cholesterol (LDL-C) levels (154.7 ± 51.5) were higher, than in the II group (220.6 ± 39.8 and 154.7 ± 51.5 , $p < 0.05$), accordingly. Simultaneously, in I group of patients there was a significantly lower value of high density cholesterol (HDL-C) level (34.1 ± 6.3) in comparison with II group (36.8 ± 6.8 , $p < 0.05$). Apolipoprotein B / apolipoprotein AI ratio at I group (0.9 ± 0.3) was above ($p < 0.05$), concerning II group (0.8 ± 0.2).

Conclusions. Carriage of «ε4» allele of the ε2/ε3/ε4 APO E gen polymorphism and «S2» allele of the SstI APO CIII gen polymorphism is the promoting factor in development of a coronary atherosclerosis and atherogenic dislipidemia among Uzbek patients.

Keywords: lipid transport system genes polymorphism, lipids, apolipoproteins, coronary atherosclerosis.

Многочисленные эпидемиологические, экспериментальные, клинические и генетические исследования убедительно показывают первичную роль нарушений липидного обмена в развитии и прогрессировании атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС). В связи с этим несомненный интерес представляет изучение полиморфизма генов, принимающих участие в регуляции транспорта и метаболизма в плазме крови [1–3]. Среди генов-кандидатов, рассматриваемых вовлеченными в риск развития ИБС, важное место занимает ген, кодирующий аполипопротеин E (Апо E) [4, 5]. Первичная роль Апо E в метаболизме липидов плазмы основана на взаимодействии с ремнантами хиломикрон и частиц липопротеинов промежуточной плотности с липопротеиновыми рецепторами, включая рецепторы липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), рецепторы ремнант хиломикрон и рецепторы Апо E. Также особое место занимает ген, кодирующий аполипопротеин CIII (Апо CIII), – один из основных компонентов богатых триглицеридами липопротеинов (хиломикрон и липопротеинов очень низкой плотности). Многочисленные исследования указывают на связь между вариантами

распределения SstI полиморфизма гена Апо CIII с повышенной концентрацией белка Апо CIII и высоким уровнем триглицеридов (ТГ) [6, 7], а также с повышенным риском развития ИБС, повторных дестабилизаций и прогрессирования атеросклероза [8, 9]. В связи с вышеизложенным представляло интерес изучить влияние комбинированного носительства полиморфизмов вышеперечисленных генов на показатели липидного обмена у больных с коронарным атеросклерозом.

Цель исследования

Изучить особенности нарушения липидного обмена в зависимости от комбинированного носительства «ε4»-аллеля ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена аполипопротеина E и «S2»-аллеля SstI полиморфизма гена аполипопротеина CIII у больных с коронарным атеросклерозом.

Материал и методы

В исследование включен 141 больной с нестабильной стенокардией (НС) II В класса (Braunwald

E. et al., 1989), у которых, по данным коронарографии, выявлено наличие коронарного атеросклероза различной степени. Группу сравнения составили 50 здоровых лиц узбекской национальности без клинических и инструментально-диагностических признаков ИБС (по данным теста с физической нагрузкой), сопоставимых с больными по полу и возрасту, не имеющихотягощенного семейного анамнеза ИБС.

Из исследования исключали пациентов с инфарктом миокарда (ИМ), перенесенным в предшествующие 3 месяца, больных с сахарным диабетом (СД) 2-го типа, требующих лечения инсулином, с артериальной гипертензией II–III степени (АД > 159/99 мм рт. ст.), гипотонией (АД < 100/60 мм рт. ст.), мерцательной аритмией и жизнеугрожающими желудочковыми нарушениями ритма сердца, пороками сердца, до поступления длительно принимающих гиполипидемические препараты и ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ), с хронической сердечной недостаточностью выше II ФК (NYHA), хронической почечной и печеночной недостаточностью.

Использовали следующие методы исследования:

- оценка традиционных факторов риска: повышенное артериальное давление (АД), курение, индекс массы тела, СД;
- физикальное обследование;
- клинические и биохимические лабораторные методы;
- электрокардиограмма в 12 отведениях;
- эхокардиография и оценка толщины комплекса интима-медиа сонных артерий (ТКИМ);
- коронарография.

Спектр липидов крови: общий холестерин (ОХС), холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), ТГ, коэффициент атерогенности (КА), биохимические показатели (аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза, креатинфосфокиназа), биомаркеры липидного обмена (аполипопротеин А (Апо А1), аполипопротеин В (Апо В), соотношение Апо В/Апо А1, липопротеин- α), биомаркеры воспаления (высокочувствительный С-реактивный белок (вЧСРБ)), фибриноген, СОЭ, лейкоциты) определяли на автоанализаторе Daytona (RANDOX, Ирландия).

Коронароангиография выполнялась на установке Allura CV-20 (Philips, Нидерланды). Для оценки степени сужения сосуда использовалась визуальная оценка со следующей характеристикой: нормальная коронарная артерия, измененный контур артерии без определения степени стеноза, сужение < 50 %, сужение на 51–75 %, 76–95 %, 95–99 % (субтотальное), 100 % (окклюзия). Существенным рассматривали сужение артерии > 50 %. Гемодинамически незначимым считалось сужение просвета сосуда < 50 %. Генотипирование $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ полиморфизма гена аполипопротеина Е (Апо Е) и SstI полиморфизма гена аполипопротеина

СIII (Апо СIII) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в лаборатории функциональной геномики человека Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз с использованием термоциклера PCR Systems 2700 (Applied Biosystems, США) и в лаборатории АГ и МГИ РСЦК на термоциклере GeneAmp PCR Systems 9700 (Applied Biosystems, США). Для проведения ПЦР-амплификации использовали наборы лаборатории «СибЭнзим» (Россия).

Для гена Апо СIII использовалась следующая последовательность праймеров [Ahmad Reza Bandegi et al. 2011]:

Апо СIII F:

5' – GGT GAC CGA TGG CTT CAG TTC CCT GA-3' (26 н.)

Апо СIII R:

5'- CAG AAG GTG GAT AGA GCG CTG GCC T-3' (25 н.)

Для гена Апо Е использовалась следующая последовательность праймеров [Hixson J. и Wenham P. R., 1991, 1990]:

Upstream primer =

5'TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA3'

Downstream primer =

5'ACAGAATTCGCCCCGGCTGGTACACTGCCA3'.

Базисная терапия включала: антикоагулянты (гепарин или клексан) в остром периоде (100 %), антиагреганты (100 %), бета-адреноблокаторы (бисопролол, 100 %), статины (симвастатин 20–40 мг или аторвастатин 20–40 мг, 100 %), при необходимости нитраты (95 %) и ингибиторы АПФ (95 %).

При проведении статистического анализа полученных данных использовали возможности электронных таблиц Microsoft Excel и пакета статистического анализа Statistica 6.0. Полученные результаты представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$), статистическая значимость полученных измерений при сравнении средних величин определялась по критерию Стьюдента (t) с вычислением вероятности ошибки (p) при проверке нормальности распределения стандартными методами. Если распределение изучаемых переменных отличалось от нормального, применяли непараметрические методы анализа: Т-критерий Вилкоксона для последовательных измерений и U-критерий Манна – Уитни для двух выборок. Сравнение количественных параметров в исследуемых группах осуществлялось с использованием критериев Манна – Уитни, медианного χ^2 -квадрат, Колмогорова – Смирнова. Соответствие эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди-Вайнберга оценивали по критерию χ^2 .

Результаты

При сравнительной оценке распределения частоты носительства полиморфных аллелей гена Апо Е у больных с коронарным атеросклерозом до-

стоверно чаще наблюдалось носительство аллеля «ε4» (61,7%), чем среди здоровых лиц (12%) (ОШ 11,82; 95%-ный ДИ 4,7–29,6; $\chi^2 = 34,535$, $p < 0,001$) (табл. 1). При этом уровень Апо В у больных ε4-носителей оказался достоверно выше ($113,9 \pm 26,8$ мг/дл) относительно не-ε4-носителей ($100,3 \pm 20,9$ мг/дл, $p < 0,05$) и наблюдалась тенденция к более высоким значениям ОХС и ХС ЛПНП. Это подтверждает потенциально более высокую атерогенность дислипидемии у ε4-носителей.

При анализе распределения частоты носительства «S2»-аллеля гена Апо СIII среди больных с коронарным атеросклерозом оказалось

достоверно больше носителей «S2» – 51 (27,6%), по сравнению со здоровыми лицами – 9 (18%) (ОШ 2,58; 95%-ный ДИ 1,161–5,740, $\chi^2 = 4,844$, $p < 0,05$) (табл. 1). При этом у носителей S2-аллеля наблюдался достоверно высокий уровень ТГ ($261,2 \pm 113,7$; $p < 0,05$), который, как известно, является одним из показателей атерогенной дислипидемии, относительно группы не-S2-носителей ($225,8 \pm 87,3$). В то же время средние показатели ОХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП и биомаркеры липидного обмена: Апо АI, Апо В и соотношение Апо В / Апо АI между группами не различались.

Вышеизложенное послужило основанием для выделения в одну группу пациентов с комбинацией

Таблица 1. Распределение частоты носителей «повреждающего» аллеля «ε4» ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена Апо Е и «S2» SstI полиморфизма гена Апо СIII у больных с коронарным атеросклерозом и здоровых лиц узбекской национальности (n, %)

Гены		Больные с коронарным атеросклерозом (n = 141)	Здоровые лица (n = 50)	p
ε2/ε3/ε4 полиморфизм гена Апо Е	ε4-носители	87 (61,7 %)	6 (12 %)	ОШ 11,82; 95%-ный ДИ 4,7–29,6; $\chi^2 = 34,5$, $p < 0,001$
	не-ε4-носители	54 (38,3 %)	44 (88 %)	
SstI полиморфизм гена Апо СIII	S2-носители	51 (27,6 %)	9 (18 %)	ОШ 2,58; 95%-ный ДИ 1,2–5,7; $\chi^2 = 4,8$, $p < 0,05$
	не-S2-носители	90 (72,3 %)	41 (82 %)	

Примечание: $p < 0,05$, $p < 0,001$ – достоверность различия относительно группы здоровых лиц; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; Апо Е – аполипопротеин Е; Апо СIII – аполипопротеин СIII.

одновременного носительства «повреждающих» аллелей «ε4» и «S2» – 37 больных (26,2%, I группа) против остальных – 104 (73,8%, II группа) больных для изучения влияния комбинированного носительства «ε4» и «S2» на показатели липидного обмена у больных с коронарным атеросклерозом (табл. 2).

При сравнительном изучении показателей липидного спектра уровни ОХС ($238,0 \pm 54,3$) и ХС ЛПНП ($154,7 \pm 51,5$) в I группе больных достоверно превышали ($p < 0,05$) значения ОХС ($220,6 \pm 39,8$) и ХС ЛПНП ($138,8 \pm 37,6$) во II группе. Одновременно у больных I группы отмечалось более низкое значение уровня ХС ЛПВП ($34,1 \pm 6,3$, $p < 0,05$) относительно II группы ($36,8 \pm 6,8$). Вышеперечисленные изменения уровня липидов обусловили достоверно более высокий уровень КА ($6,2 \pm 2,0$, $p < 0,01$) – интегрального показателя дислипидемии в I группе больных, по сравнению со II группой ($5,2 \pm 1,4$). При этом средние показатели уровня ТГ в изучаемых группах существенно не различались. Уровень Апо В оказался несколько выше ($115,0 \pm 24,9$ мг/дл), а уровень Апо АI –

ниже ($133,8 \pm 21,3$) в I группе, что обусловило достоверно более высокое значение соотношения Апо В / Апо АI – $0,9 \pm 0,3$ ($p < 0,05$) относительно II группы ($107,0 \pm 25,7$; $139,1 \pm 22,2$ и $0,8 \pm 0,2$) соответственно (табл. 2).

Обсуждение

Три основные изоформы Апо Е кодируются 3 аллелями гена Апо Е: ε2, ε3 и ε4, при этом носительство «повреждающего» ε4-аллеля связано с высокими уровнями ОХС и ХС ЛПНП, что ассоциируется с высокой распространенностью сердечно-сосудистых заболеваний [10]. В субисследовании, проводившемся в рамках многоцентрового скандинавского исследования 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study), было показано, что среди обследованных пациентов, перенесших инфаркт миокарда, ε4-носительство встречалось в 36,5% случаев, тогда как не-ε4-носителями было 63,5% [11]. При этом принимавшие плацебо ε4-носители имели почти вдвое более высокий риск смертности относительно не-носителей (15,7% и 9%; ОШ 1,8; 95%-ный

Таблица 2. Сравнительная оценка исходных показателей липидного обмена и уровня биомаркеров липидного обмена в зависимости от комбинированного носительства «повреждающих» аллелей «ε4» гена Апо Е и «S2» гена Апо СIII у больных с коронарным атеросклерозом (M ± SD)

Показатели	I группа (носительство) (n = 37)	II группа (без носительства) (n = 104)	p
ОХС, мг/дл	238,0 ± 54,3	220,6 ± 39,8	p < 0,05
ТГ, мг/дл	245,9 ± 95,0	234,7 ± 93,7	нд
ХС ЛПНП, мг/дл	154,7 ± 51,5	138,8 ± 37,6	p < 0,05
ХС ЛПВП, мг/дл	34,1 ± 6,3	36,8 ± 6,8	p < 0,05
ХС ЛПОНП, мг/дл	49,2 ± 19,0	46,9 ± 18,7	нд
КА, отн. ед.	6,2 ± 2,0	5,2 ± 1,4	p < 0,05
Глюкоза, ммоль/л	5,8 ± 1,7	5,8 ± 1,3	нд
Апо АI, мг/дл	133,8 ± 21,3	139,1 ± 22,2	нд
Апо В, мг/дл	115,0 ± 24,9	107,0 ± 25,7	нд
Апо В/Апо АI, ед.	0,9 ± 0,3	0,8 ± 0,2	p < 0,05
ЛП (а), мг/дл	30,1 ± 22,8	34,7 ± 35,5	нд

Примечание: p < 0,05 – достоверность межгрупповых различий; ОХС – общий холестерин, ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ – триглицериды, КА – коэффициент атерогенности, Апо АI – аполипопротеин АI, Апо В – аполипопротеин В, Апо В/Апо АI – соотношение аполипопротеинов В и АI, ЛП (а) – липопротеин-а.

ДИ 1,1–3,1). Результаты настоящего исследования подтверждают, что накопление «повреждающего» ε4-аллеля наблюдается значительно чаще среди больных с коронарным атеросклерозом, перенесших дестабилизацию стенокардии (61,7%), по сравнению с группой здоровых лиц (12%) ($\chi^2 = 34,54$, p < 0,0001).

Многочисленные исследования показывают также связь между наличием описываемого полиморфного варианта «S2» SstI полиморфизма гена Апо СIII с повышенной концентрацией белка Апо СIII и высоким уровнем ТГ [12, 13], а также с повышенным риском развития ИБС [9], причем это подтверждено результатами генетического анализа в рамках классического Фремингемского исследования [14].

Полученные нами результаты изучения влияния комбинированного носительства двух повреждающих аллелей: «ε4» ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена Апо Е и «S2» SstI полиморфизма гена Апо СIII на липидный спектр у больных с подтвержденным коронарным атеросклерозом позволяют рассматривать их носительство как один из факторов, повышающих риск развития атерогенной дислипидемии и развития коронарного атеросклероза.

Заключение

У больных коронарным атеросклерозом достоверно чаще встречается носительство повреждающих аллелей: «ε4» ε2/ε3/ε4 полиморфизма гена Апо Е (p < 0,05) и «S2» SstI полиморфизма гена Апо СIII (p < 0,001). При этом комбинированное носительство двух повреждающих аллелей наблюдалось примерно у четверти (26,2%) больных и сопровождалось достоверно более высоким уровнем ОХС (p < 0,05), ХС ЛПНП (p < 0,05) соотношения Апо В/Апо АI (p < 0,05), и более низким значением ХС ЛПВП (p < 0,05).

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательского гранта Государственного комитета по науке и технологиям Республики Узбекистан № АДСС 13,4 2012–2014 гг. Руководитель – д. м. н. Шек А. Б.

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы

1. Mabley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*. 1988;240:622-30.
2. Vrablik M, Ceska R, Horinek A. Major apolipoprotein B-100 mutations in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Physiol Res*. 2001;50(4):337-43.
3. Miettinen H, Korpela K, Hamalainen L, Kontula K. Polymorphisms of the apolipoprotein and angiotensin converting enzyme genes in young North Karelian patients with coronary heart disease. *Hum Genet*. 1994;94(2):189-92.
4. Vinogradova SV. Role of polymorphism of a gene apolipoprotein E in development of an atherosclerosis (review). *Medical genetics*. 2006;2:3-10. Russian (Виноградова СВ. Роль полиморфизма гена аполипопротеина E в развитии атеросклероза (обзор). *Медицинская генетика*. 2006;2:3-10).
5. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Int Med*. 2004;141(2):137-47.
6. Wang C, McConathy WJ, Kloer HU, Alaupovic P. Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-III. *J Clin Invest*. 1985;75(2):384-90.
7. Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA. VLDL, apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial. *Circulation*. 2000;102(16):1886-92.
8. Alaupovic P, Mack WJ, Knight-Gibson C, Hodis HN. The role of triglyceride-rich lipoprotein families in the progression of atherosclerotic lesions as determined by sequential coronary angiography from a controlled clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:715-22.
9. Tsai MY, Ordovas JM. APO CIII mutation, serum triglyceride concentrations, and coronary heart disease. *Clin Chem*. 2009;55(7):1274-6.
10. Davignon J, Cohn JS, Mabile L, Bernier L. Apolipoprotein E and atherosclerosis: insight from animal and human studies. *Clin Chim Acta*. 1999;286(1-2):115-43.
11. Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K. 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. *Circulation*. 2000;101(12):1366-71.
12. Espino-Montoro A, Barrios-Artillo M, Lypez-Chozas JM. Influence of polymorphism (RFLP-sstI) at the apolipoprotein C-III gene locus on the lipoprotein metabolism and insulin resistance in essential hypertensive patients. Interaction between gender and genetic polymorphism. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2003;13(4):194-201.
13. Baroni MG, Berni A, Romeo S, Arca M, Tesorio T, Sorropago G, Di Mario U, Galton DJ. Genetic study of common variants at the Apo E, Apo AI, Apo CIII, Apo B, lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (LIPC) genes and coronary artery disease (CAD): variation in LIPC gene associates with clinical outcomes in patients with established CAD. *BMC Med Genet*. 2003;4:8.
14. Russo GT, Meigs JB, Cupples LA, Demissie S, Otvos JD, Wilson PW, Laboz C, Cucinotta D, Couture P, Mallory T, Schaefer EJ, Ordovas JM. Association of the Sst-I polymorphism at the APOC3 gene locus with variations in lipid levels, lipoprotein subclass profiles and coronary heart disease risk: the Framingham offspring study. *Atherosclerosis*. 2001;158(1):173-81.