

## СУДАЛГАА, ШИНЖИЛГЭЭ

### БИОАНАГААХ

#### Бодисын солилцооны хам шинжтэй хүмүүст аполипопротеин А5 генийн 1177C>T хэв шинжийг ийлдсийн триглицеридын төвшинтэй холбон судалсан дүн

Ч.Ариунболд<sup>1</sup>, Б.Хажидсүрэн<sup>1</sup>, Т.Буянхүү<sup>1</sup>, Э.Аззаяа<sup>2</sup>, Ж.Мөнхцэцэг<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>АШУҮИС, ЭЗ-БиоАС, Эсийн биологи, Биохимийн тэнхим  
<sup>2</sup>Япон улс, Токиогийн Их Сургууль, Генетикийн тэнхим  
Email: ariunbold.md@gmail.com

#### Abstract

#### The study of apolipoprotein A5 gene polymorphism in relation to serum triglyceride level in people with metabolic syndrome

Ariunbold Ch.<sup>1</sup>, Khajidaa B.<sup>1</sup>, Buyankhuu T.<sup>1</sup>, Azgaya E.<sup>2</sup>, Munkhtsetseg J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MNUMS, School of Pharmacy and Biomedicine, Department of Cellular biology and Biochemistry

<sup>2</sup>Department of Human Genetics, The University of Tokyo

Email: ariunbold.md@gmail.com

**Background.** A large number of longitudinal studies indicate significantly increased risk of cardiovascular events and death in people with the MetSyn and high plasma levels of triglycerides are an independent risk factor for the development of cardiovascular disease. Apolipoprotein A5 (APOA5) gene, a new member of the APOA1/C3/A4 gene cluster, was identified by comparative sequencing of human and mice DNA by Pennacchio and co-workers in 2001. Since this discovery, variants of ApoA5 gene have been independently associated with level of plasma triglyceride in many countries. Human ApoA5 is expressed in the liver then appears in plasma in association with VLDL and HDL and plays a major role in TG catabolism. Variant at ApoA5 gene locus, 1177C>T is located in 3' UTR which often contains regulatory regions that influence post-transcriptional gene expression. One alteration can be responsible for the altered expression of many genes.

**Materials and Methods.** 152 people with MS for case group and 152 people for control group were selected in this study. MS was diagnosed according to IDF criteria and serum triglyceride levels were determined. DNA from both case and control subjects were extracted from blood samples (200 ml) using "G-spin™ Total DNA Extraction Kit" (iNtRON Biotechnology, Inc). To detect the 1177C>T variation of ApoA5 gene, using High Pure PCR Template Preparation Kits, a forward primer 5'-CTCTGAGCCTCTAGCATGGTTGAGT-3' and the mismatch reverse primer 5'-GAGCATTCCCAAATGAGCAC-3' were used to create the HinfI restriction site.

**Results.** There were 304 total subjects included males 50.3% (153) and female 49.7% (151) in our study. Incident of CC genotype was 71.1% (216), CT genotype was 25% (76) and TT genotype was 3.9%, TAG level was higher in males than females in both groups (p=0.016, p=0.001) for CC genotype and also, higher with MS in males for CT genotype (p=). But, TAG level was no significant difference among three genotypes in group with MS subjects (male p=0.236, female p=0.881).

Conclusion: The TT genotype of the ApoA5 gene 1177C>T polymorphism frequency was 2.9% in control subjects and 4.9% in subjects with MS. However, TG level was not differ in both groups for TT genotype, TAG level in males was higher compared with females (p=0.016 in control, p=0.001 in group with MS).

**Key words:** Metabolic Syndrome, Triglyceride, ApoA5 gene, SNP, 1177C>T

Pp. 4-7, Table 1, Figure 1, References 10

### Удиртгал

Зүрх судасны өвчлөлийн бие даасан эрсдэлт хүчин зүйлүүд болох бодисын солилцооны хам шинжтэй болон ийлдсийн триглицерид (ТАГ) ихсэлттэй хүмүүст зүрх судасны өвчлөл, нас баралт ихсэж байгааг олон тооны судалгаа харуулж байна [1]. 2001 онд Ренпасchio нар хүн болон хулганы генийн ДНХ-н дарааллыг харьцуулан АРОА1/С3/А4 генийн кластерт шинэ АпоА5 генийг илрүүлсэн байна [2]. Энэхүү нээлтээс эхлэн уг генийн хэв шинжүүд нь бодисын солилцооны хам шинжийн нэг бүрэлдэхүүн хэсэг болох гипертриглицеридеми-тэй улс орон бүрт харилцан адилгүй хамааралтай болох нь тогтоогдсоор байна [3-6]. Хүний АпоА5 уураг нь анхдагчаар гепатоцит эсэд экспресслэгдэж ийлдсэнд МБНЛП, ИНЛП-н найрлаганд агуулагддаг бөгөөд ТАГ-ын катаболизмд чухал үүрэгтэйгээр оролцдог [7]. 1177С>Т нь генийн экспрессийн транскрипцийн дараах шатанд зохицуулгын үүрэгтэй хэсгүүдийг агуулсан, трансляцид оролцдоггүй 3' UTR бүсэд байрладаг [8]. Энэ бүсийн нэг л өөрчлөлт нь олон генийн экспрессийн процесс өөрчлөгдөхөд хүргэдэг [9].

### Зорилго

Судалгаанд хамрагдсан БСХШ-тэй хүмүүст Аполипопротеин А5 генийн 1177С>Т хэв шинжийг тодорхойлж ийлдсийн триглицеридын төвшинтэй холбон судлах.

### Материал, аргазүй

Судалгаанд БСХШ-тэй 152 хүн, хяналтын бүлгийн 152 хүн хамрагдсан. БСХШ-ийг ОУ-ын диабетийн холбооны критерийн дагуу үнэлэв [10]. ЭМЯ-ны Анагаахын ёс зүйн хорооны зөвшөөрөлтэйгээр судалгаанд оролцогчдоос өлөн үед венийн судаснаас 3мл цус авч триглицеридын хэмжээг тодорхойлон, ДНХ ялгахдаа БНСУ-ын iNtRON Biotechnology компанийн "G-spin™ Total DNA Extraction Kit" (cat.No.1007) цомгийг ашиглан дагалдах протоколын дагуу ДНХ-ийг ялгав. ПГУ-ыг явуулахдаа iNtRON Biotechnology компанийн "Maxine PCR PreMix Kit" (i-Star Taq) цомгийг ашиглан АпоА5 генийн 1177С>Т хэв шинжийг өвөрмөц праймер (АпоА5 F:5'-

CTCTGAGCCTCTAGCATGGTTGAGT-3', R:5'-GAGCATTCCTCCAAATGAGCAC-3') ашиглан тодорхойлов. ПГУ-ын бүтээгдэхүүнээ Hinfl ферментээр зүсэж, 3%-ийн агарозын гельд гүйлгэн, этидиумбромидоор будаж гелийн зургийг авч дүгнэв.

### Үр дүн

1177С>Т хэв шинжийн ПГУ-аар олшруулсан бүтээгдэхүүнийг Hinfl зүсэгч ферментээр зүсэхэд СС генотипын үед 73bp ба 101bp, СТ генотипын үед 73bp, 101bp ба 124bp, харин ТТ генотиптай сорьцонд 73bp ба 124bp урттай хэрчимүүд үүссэн [11].

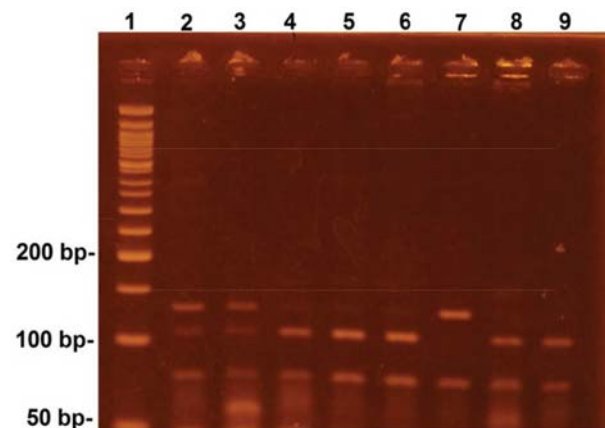


Figure 1. PCR-RFLP analysis of ApoA5-1177C>T variation

Samples 4-6, 8 and 9 are the CC genotype. Samples 2 and 3 are the CT genotype. Sample 7 is the TT genotype.

Судалгаанд хамрагдсан нийт 304 хүний 50.3% (153) нь эрэгтэй, 49.7% (151) нь эмэгтэй байсан бөгөөд 71.7% (215)-д нь СС, 25.0% (76)-д нь СТ, 4.2% (13)-д нь ТТ генотипүүд тус тус илэрсэн бол бүлгүүдийн хувьд хяналтын бүлгийн 70.0% (106)-д СС, 27.1% (41)-д СТ, 2.9% (5)-д ТТ, тохиолдлын бүлгийн 72.0% (109)-д СС, 23.2% (35)-д СТ, 4.9% (8)-д ТТ генотип илэрсэн. Харин хяналтын бүлгийн эрэгтэйчүүдэд ТТ генотип илэрсэнгүй (0%).

Судалгаанд хамрагдагсдын АпоА5 генийн 1177С>Т хэв шинжийн илрэл, түүнийг ийлдсийн ТАГ-ын түвшинтэй харьцуулав (Хүснэгт 1).

**Table 1. Serum triglyceride level (mg/dl) in relation to 1177C>T gene polymorphism presence**

Genotypes	Control group			Group with MS		
	Male M±SD	Female M±SD	p	Male M±SD	Female M±SD	p
CC	84.49±47.4	59.84±17.80	0.016	172.45±77.31	106.93±59.02	0.001
CT	85.61±37.7	64.44±28.19	0.180	225.64±155.1	99.75±36.31	0.012
TT	-	100.86±43.75		134.52±71.35	81.09±48.25	0.583
p (ANOVA)	0.946	0.045		0.236	0.881	

Судалгаанд хамрагдсан хяналтын болон БСХШ-тэй бүлгийн СС генотип бүхий эрэгтэйчүүдийн ТАГ-ын төвшин эмэгтэйчүүдтэй харьцуулахад өндөр ( $p=0.016$ ,  $p=0.001$ ) байв. Харин СТ генотиптэй эрүүл хүмүүсийн ТАГ-ын төвшин хүйсээс хамаарсан ялгаагүй ( $p=0.180$ ), БСХШ-тэй эрэгтэй хүмүүст илүү өндөр байв ( $p=0.012$ ). Мөн хяналтын бүлгийн эмэгтэйд ТАГ-ын түвшин генотипүүдийн 3 бүлэгт ялгаатай байна ( $p=0.045$ ). Харин БСХШ-тэй бүлгийн хүмүүст ТАГ-ын түвшин генотипын 3 бүлэгт статистик ач холбогдол бүхий ялгаа байсангүй (эрэгтэйд  $p=0.236$ , эмэгтэйд  $p=0.881$ ).

#### Хэлцэмж

АпоА5 генийн хэв шинжүүдийн нуклеотидэд суурилсан өөрчлөлт нь уг уургийн амин хүчлийн дарааллыг өөрчилж улмаар уургийн физик, химийн шинж чанар өөрчлөгдөхөд хүргэдэг. АпоА5 генийн 1177C>T хэв шинжийн хувьд 1177-р нуклеотидын дараалалд цитозин тимин-ээр солигдох нь ховор байдаг бөгөөд ТТ гомозигот нь уг хэв шинжийнхээ өөрчлөлтийг тодорхойлдог. Бид энэхүү судалгаагаар эрүүл болон БСХШ-тэй хүмүүст АпоА5 генийн (1177C>T) хэв шинжийн СС, СТ, ТТ генотипүүдэд ТАГ-ын төвшинд гарах ялгааг тодорхойлохыг зорив. Манай судалгаанд АпоА5 генийн өвөрмөц хэв шинж болох 1177C>T полиморфизмын ховор аллелийн (ТТ) тохиолдол нь хяналтын бүлэгт 2.9% байгаа нь Тайваньд [11] хийсэн судалгааны хяналтын бүлэгтэй харьцуулбал ойролцоогоор 3 дахин их, БСХШ-тэй бүлэгт 4.9% байгаа нь Тайваний тохиолдлын бүлгээс даруй 5 дахин их байсан нь манай хүн амын дунд БСХШ илүүтэй тохиолдох нэг дотоод эрсдэлт хүчин зүйл байж болох ч ТТ аллель бүхий хүмүүст ТАГ-ын төвшин өндөр биш байгаа нь судалгаанд хамрагдсан хүний тоо цөөн байсантай холбоотой байх магадлалтай. Цаашид уг генийн БСХШ, зүрх судасны эмгэг, өөх тосны

солилцооны алдагдалтай холбоотой байдаг бусад хэв шинжүүдийг ТАГ-ын төвшинтэй холбон судлах шаардлагатай юм.

#### Дүгнэлт:

АпоА5 генийн (1177C>T) хэв шинжийн гипертриглицеридемийн эрсдэлт аллель болох ТТ генотип судалгаанд хамрагдсан хяналтын бүлгийн хүмүүсийн 2.9%-д, БСХШ-тэй бүлгийн 4.9%-д илрэв. ТТ генотиптэй эрүүл болон БСХШ-тэй хүмүүст ТАГ-ын төвшин ялгаагүй, харин СС болон СТ генотиптэй хүмүүст ТАГ-ын төвшин БСХШ-тэй болон хяналтын бүлгийн эрэгтэйчүүдэд эмэгтэйчүүдтэй харьцуулахад өндөр байв ( $p=0.016$ ,  $p=0.001$ )

#### Талархал

АШУУИС-ийн ЭЗ-БиоАС-ийн Эсийн биологи, Биохимийн тэнхим дээр хэрэгжсэн, “Бодисын солилцооны хам шинж үүсэхэд нөлөөлөх удамшлын зарим хүчин зүйлс: өөх тосны солилцоог зохицуулагч зарим генийн полиморфизмын судалгаа” төсөлт ажлын хүрээнд уг судалгаа хийгдсэн болно (ШУТС, 2012-2014).

#### Ном зүй

1. Gami, A.S., et al., Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol*, 2007. 49(4): p. 403-14.
2. Pennacchio, L.A., et al., An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science*, 2001. 294(5540): p. 169-73.
3. Austin, M.A., et al., Association of apolipoprotein A5 variants with LDL particle size and triglyceride in Japanese Americans. *Biochim Biophys Acta*, 2004. 1688(1): p. 1-9.

4. Lai, C.Q., et al., Influence of the APOA5 locus on plasma triglyceride, lipoprotein subclasses, and CVD risk in the Framingham Heart Study. *J Lipid Res*, 2004. 45(11): p. 2096-105.
5. Hodoglulil, U., et al., Apolipoprotein A-V: a potential modulator of plasma triglyceride levels in Turks. *J Lipid Res*, 2006. 47(1): p. 144-53.
6. Grallert, H., et al., APOA5 variants and metabolic syndrome in Caucasians. *J Lipid Res*, 2007. 48(12): p. 2614-21.
7. Nilsson, S.K., et al., Apolipoprotein A-V; a potent triglyceride reducer. *Atherosclerosis*, 2011. 219(1): p. 15-21.
8. Barrett, L.W., S. Fletcher, and S.D. Wilton, Regulation of eukaryotic gene expression by the untranslated gene regions and other non-coding elements. *Cell Mol Life Sci*, 2012. 69(21): p. 3613-34.
9. Chatterjee, S. and J.K. Pal, Role of 5'- and 3'-untranslated regions of mRNAs in human diseases. *Biol Cell*, 2009. 101(5): p. 251-62.
10. Alberti, K.G., P. Zimmet, and J. Shaw, The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*, 2005. 366(9491): p. 1059-62.
11. Kao, J.T., et al., A novel genetic variant in the apolipoprotein A5 gene is associated with hypertriglyceridemia. *Hum Mol Genet*, 2003. 12(19): p. 2533-9.

*Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн: Академич Л.Лхагва*