

Бодисын солилцооны хам шинжтэй хүмүүст аполипопротеин а5 генийн зарим хэв шинжүүдийг өөх тосны үзүүлэлтүүдтэй холбон судалсан дүн

Ч.Ариунболд, Т.Буянхүү, Ж.Мөнхцэцэг
АШУУИС, ЭЗ-БиоАС, Эсийн биологи, Биохимийн тэнхим
Email: ariunbold.md@gmail.com

Abstract

The study of apolipoprotein a5 gene polymorphisms in relation to lipid level in people with metabolic syndrome

Ariunbold Ch., Buyankhuu T., Munkhtsetseg J.
MNUMS, School of Pharmacy and Biomedicine, Department of Cellular biology and Biochemistry
Email: ariunbold.md@gmail.com

Background: Epidemiologic studies have shown a higher prevalence of hypertriglyceridemia among patients with CHD than among unaffected populations. Dozens of polymorphisms in different genes that could have some effect on plasma TG levels have been analyzed.

The most promising results are connected with variants within the apolipoproteins (APO) APOA1/APOC3/APOA4 gene cluster. Transgenic mice overexpressing human apolipoprotein A5 decreased plasma triglyceride concentrations to one-third of those in control mice; conversely, knockout mice lacking APOA5 had four times as much plasma triglycerides as controls. The human APOA5 gene consists of 4 exons and codes 369 amino acid protein, which is expressed almost exclusively in the liver. A minor allele of APOA5 (1259C, IVS3+476A and 1131C) which was independently associated with high plasma triglyceride levels in African-American, non Hispanic whites, Hispanic, Caucasians and Japanese were reported. Four polymorphisms in ApoA5 (1259T>C, IVS3+476G>A, S19W and 1131T>C) has been correlated with high TG levels in diabetic women.

Materials and Methods: 162 people with MS for case group and 144 people for control group were selected in this study. MS was diagnosed according to IDF criteria and serum triglyceride, total cholesterol and HDL levels were determined. DNA from both case and control subjects were extracted from blood samples (20µL) using "G-spin™ Total DNA Extraction Kit" (iNtRON Biotechnology, Inc). The genotypes for four polymorphisms of ApoA5 were determined using a combination of PCR and sequence-specific oligonucleotide probes.

Results: There were 304 total subjects included males 50.3% (153) and female 49.7% (151) in our study. The appearance of risk genotypes of 1177C>T, 1259T>C, IVS3+476G>A and 1131T>C polymorphisms in ApoA5 gene were higher in MS group than control group. Serum levels of triglycerides and total cholesterol differed significantly ($p<0.001$, $p=0.029$) among APOA5-1131T>C genotypes.

Conclusion: TAG and TC level was higher in people with 1131T>C-CC genotype than other genotypes in both groups ($p=0.010$, $p=0.001$). We determined that the odds ratio for the hypertriglyceridemia was 5.98 for ApoA5-1131T>C CC-genotype carriers.

Key words: Metabolic Syndrome, Cholesterol, Triglyceride, HDL, ApoA5 gene, SNPs

Pp.10-13, Tables 3, References 12

Удиртгал: Тархвар судлалын судалгаануудаас харахад ЗСӨ-тэй хүмүүст гипертриглицеридемийн тархалт өндөр байна. Янз бүрийн генийн хэдэн арван хэвшинжүүд нь ийлдсийн триглицеридын түвшинд нөлөөлж болохыг олон судалгаа

харуулж байна [1]. Ихэнх найдвар төрүүлсэн үр дүнгүүд нь апопротеинуудын АПОА1/С3/А4А5 генийн кластерт байгаа хэвшинжүүдтэй холбоотой байна [2]. АпоА5 ген нь 4 экзонуос бүрдсэн 369 амин хүчил кодлодог ген бөгөөд

ихэнхдээ элгэнд уураг нийлэгжүүлдэг [3]. Хүний АпоА5 генийг экспресслэсэн трансген хулгануудын ийлдсийн триглицеридын түвшин хяналтын бүлгийн хулгануудтай харьцуулахад 1-3 дахин багасч эсрэгээрээ АпоА5 ген knockout болгосон хулгануудын ийлдсийн триглицерид нь хяналтын бүлэгтэйгээ харьцуулахад 4 дахин их гарсан байна [3]. АпоА5 генийн хэв шинжүүдийн (1259С, IVS3+476А, 1131С) эрсдэлт аллелиуд нь Африк-Америк, Испани бус гаралтай цагаан арьстан, Испани, Кавказ болон Япончуудад ийлдсийн триглицерид (ТАГ) ихсэлттэй харилцан адилгүй байдлаар холбоотой байна [4-7]. Мөн чихрийн шижин, БСХШ-тэй хүмүүст АпоА5 генийн дээрх дөрвөн хэв шинж ийлдсийн ТАГ ихсэлттэй илүү хамааралтай байсан байна [8].

Зорилго

Судалгаанд хамрагдсан эрүүл болон БСХШ-тэй хүмүүст Аполипопротеин А5 генийн 1177С>Т, 1259Т>С, IVS3+476Г>А, 1131Т>С хэв шинжүүдийг тодорхойлж ийлдсийн триглицерид (ТАГ), нийт холестерол (НХ) болон их нягттай липопротеины (ИНЛП) төвшинтэй холбон, тохиолдол хяналтын бүлгүүдэд харьцуулан судлах.

Зорилт:

1. Судалгаанд хамрагдсан эрүүл болон БСХШ-тэй хүмүүст Аполипопротеин А5 генийн 1177С>Т, 1259Т>С, IVS3+476Г>А, 1131Т>С хэв шинжүүдийг тодорхойлох,
2. А5 генийн 1177С>Т, 1259Т>С, IVS3+476Г>А, 1131Т>С хэв шинжийн илрэлийг ийлдсийн триглицерид (ТАГ), нийт холестерол (НХ) болон их нягттай липопротеины (ИНЛП) төвшинтэй холбон, тохиолдол хяналтын бүлгүүдэд харьцуулан судлах.

Материал, аргазүй

Судалгаанд БСХШ-тэй 160 хүн, хяналтын бүлгийн 144 хүн хамрагдсан. БСХШ-ийг ОУ-ын диабетийн холбооны критерийн дагуу үнэлэв. ЭМЯ-ны Анагаахын ёс зүйн хорооны зөвшөөрөлтэйгээр судалгаанд оролцогчдоос өлөн үед венийн судаснаас 5мл цус авч ТАГ, НХ, ИНЛП хэмжээг биохимийн хагас автомат ROBONIK® анализатораар тодорхойлсон. 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, 1259Т>С, 1259Т>С, IVS3+476Г>А, 1131Т>С хэв шинжүүдийн өвөрмөц праймерууд ашиглан тодорхойлов. ПГУ-ын бүтээгдэхүүнээ өвөрмөцзүсэгч энзимээр зүсэж, 1.5-3%-ийн агарозын гельд гүйлгэн, этидиумбромидоор будаж гелийн зургийг авч дүгнэв. Судалгааг Эсийн биологи, Биохимийн тэнхимийн сургалт судалгааны лабораторид гүйцэтгэв.

Судалгааны ажлын үрдүн: Судалгаанд хамрагдсан нийт 304 хүний 51,3% (156) нь эрэгтэй, 48,7% (148) нь эмэгтэй байсан. Судалгаанд хамрагдсан хүмүүсийн АпоА5 генийн дөрвөн хэвшинжийн тохиолдол, хяналтын бүлгүүд дэх генотипийн илрэлийг харуулав (Хүснэгт 1).

Table 1. Genotype frequency of ApoA5 gene polymorphisms in control and Metabolic Syndrome (MS) groups

ApoA5-SNPs	Genotypes	Control % (n)	MS % (n)
1177C>T	CC	69.4% (100)	72.2% (114)
	CT	27.8% (40)	22.8% (36)
	TT	2.8% (4)	5.1% (8)
1259T>C	TT	62.5% (90)	55.7% (88)
	TC	30.6% (44)	35.4% (56)
	CC	6.9% (10)	8.9% (14)
IVS3+476G>A	GG	4.2% (6)	6.3% (10)
	GA	68.1% (98)	63.3% (100)
	AA	27.8% (40)	30.4% (48)
1131T>C	TT	43.1% (62)	28.8% (46)
	TC	47.2% (68)	58.8% (94)
	CC	9.7% (14)	12.5% (20)

Уг генийн 1177С>Т хэвшинжийн эрсдэлт аллель ТТ, 1259Т>С-ийнх СС, IVS3+476Г>А-ийнх АА болон 1131Т>С-ийнх СС байдаг нь олон судалгаагаар тогтоогдсон [3]. Эрсдэлт генотипүүдийн тохиолдол хяналтын бүлэгт (1177С>Т) ТТ-2.8%, (1259Т>С) СС-6.9%, (IVS3+476Г>А) АА-27.8%, (1131Т>С) СС-9.7%, БСХШ-тэй бүлэгт (1177С>Т) ТТ-5.1%, (1259Т>С) СС-8.9%, (IVS3+476Г>А) АА-30.4%, (1131Т>С) СС-12.5% буюу БСХШ-тэй хүмүүст илүүтэй илэрсэн.

Судалгаанд хамрагдагсдын АпоА5 генийн хэвшинжийн генотипүүдийг ийлдсийн ТАГ, ИНЛП болон НХ (мг/дл) түвшинтэй харьцуулав (Хүснэгт 2).

Table2. Serum TAG, HDL and TC level(mg/dl) in relation to ApoA5-SNPs

Lipids	Genotypes			p
	AA	AB	BB	
ApoA5, 1177C>T				
TAG (mg/dl)	106.97 ± 68.83	80.66±43.29	82.13±36.43	0.222
HDL(mg/dl)	33.12 ± 12.42	37.30 ± 17.22	30.16 ± 9.77	0.222
ApoA5, 1259T>C				
TAG (mg/dl)	108.11 ± 83.58	128.02 ± 92.36	102.02 ± 38.89	0.359
HDL(mg/dl)	33.92 ± 12.01	34.29 ± 14.42	31.67 ± 14.89	0.873
ApoA5 476G>A				
TAG (mg/dl)	85.32 ± 55.47	123.36 ± 92.62	98.90 ± 64.08	0.169
HDL(mg/dl)	32.62 ± 11.12	33.39 ± 11.59	34.60 ± 15.16	0.827
ApoA5, 1131T>C				
TAG (mg/dl)	93.93 ± 61.40	110.69 ± 74.82	197.60 ± 131.39	<0.001
HDL(mg/dl)	37.33 ± 15.16	32.48 ± 12.63	31.33 ± 12.45	0.093
TC (мг/дл)	150.19 ± 36.43	150.68 ± 37.05	175.55 ± 29.79	0.029

Манай судалгаанд ApoA5 генийн1131T>C хэвшинжийн генотипүүдэд ийлдсийн ТАГ болон НХ түвшин тус тус ялгаатай байсан бөгөөд CC генотиптэй хүмүүст ийлдсийн триглицерид их байна ($p<0.001$, $p=0.029$). Ийлдсийн триглицерид ихсэлтийн (ТАГ>150мг/дл) эрсдлийн үнэлгээг ApoA5 генийн генотипүүдэд тооцож үзэв (Хүснэгт3).

Table 3. Odds ratios of hypertriglyceridemia and 95% confidence intervals (CI) in relation to the presence of different alleles of apolipoprotein A5 gene

	Variable	OR(95% CI)	p
1131T>C	(CT+TT)/CC	5.98 (2.082–17.224)	0.001
1131T>C	(CC+CT)/TT	3.52 (1.363–9.137)	0.009

ApoA5 генийн CCгенотип агуулсан хүмүүстCT болон TTгенотиптэй хүмүүстэй харьцуулахад ийлдсийн ТАГ ихсэх эрсдэл 5.98, CC болон CT генотиптэй хүмүүсийг TT генотиптэй хүмүүстэй харьцуулахад ТАГ ихсэх эрсдэл 3.52 дахин тус тусих байв.

Хэлцэмж

Манай судалгаанд илэрсэн ApoA5 генийн 1177C>T,1259T>C, IVS3+476G>A, 1131T>C хэвшинжийн генотипүүдийн илрэл Японд [9] хийсэн судалгаатай харьцуулбал ойролцоо, харин Солонгос [10] болон Хятадын Тайванд [11] хийсэн судалгааны хяналтын бүлэгтэй харьцуулбал ойролцоогоор 1.5-3 дахин их, БСХШ-тэй бүлэгтэй харьцуулбал даруй 2-5 дахин их байсан нь манай

хүн амын дунд БСХ Шинж илүүтэй тохиолдох нэг дотоод эрсдэлт хүчин зүйл байж болох юм. ApoA5 генийн 1131T>C нь олон улс орон, ястан үндэстэнд судлагдсан байдаг бөгөөд гадаадын судлаачдын үр дүнгээс харахад уг хэвшинжийн C аллель нь ийлдсийн ТАГ ихсэлттэй хүчтэй холбоотой байна [5, 12]. Манай судалгаанд хамрагдсан C аллель агуулсан хүмүүст ТАГ ихсэх эрсдэл 3.52-5.98 дахин их байгаа нь Монгол хүмүүсийн өөх тосны солилцооны алдагдлын дотоод эрсдэлт хүчин зүйл болж байж болох талтайг харуулж байна.

Дүгнэлт:

Судалгаанд хамрагдсан хүмүүсийн ApoA5 генийн 1177C>T, 1259T>C, IVS3+476G>A, 1131T>C хэвшинжүүдийнэрсдэлтгенотипүүдийнтохиолдол БСХШ-тэй хүмүүст хяналтын бүлгийн хүмүүстэй харьцуулахад илүүтэй тохиолдож байна.

1131T>C хэвшинж нь ийлдсийн ТАГ болон НХ-тай бусад хэвшинжүүдээс илүү холбоотой байна ($p<0.001$, $p=0.029$). 1131T>C-ийн CC генотиптэй хүмүүст ТАГ болон НХ дундаж түвшин тус тус өндөр байлаа ($p<0.001$, $p=0.029$). Цаашлаад ApoA5 генийн 1131T>C хэвшинжийн C аллельтай хүмүүст ийлдсийн триглицерид ихсэх эрсдэл T аллельтай харьцуулахад 3.52-5.98 дахин их байна.

Талархал

АШУҮИС-ийн ЭЗ-БиоАС-ийн Эсийн биологи, Биохимийн тэнхим дээр хэрэгжсэн, “Бодисын солилцооны хамшинж 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. Gehrish, S., Common mutations of the lipoprotein lipase gene and their clinical significance. *Curr Atheroscler Rep*, 1999. 1(1): p. 70-8.
2. Hubacek, J.A., et al., Apolipoprotein A5 in health and disease. *Physiol Res*, 2009. 58 Suppl 2: p. S101-9.
3. Pennacchio, L.A., et al., An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science*, 2001. 294(5540): p. 169-73.
4. Pennacchio, L.A., et al., Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet*, 2002. 11(24): p. 3031-8.
5. Nabika, T., et al., The genetic effect of the apoprotein AV gene on the serum triglyceride level in Japanese. *Atherosclerosis*, 2002. 165(2): p. 201-4.
6. Aouizerat, B.E., et al., Genetic analysis of a polymorphism in the human apoA-V gene: effect on plasma lipids. *J Lipid Res*, 2003. 44(6): p. 1167-73.
7. Lai, C.Q., et al., The APOA5 locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentrations across ethnic groups in Singapore. *J Lipid Res*, 2003. 44(12): p. 2365-73.
8. Qi, L., et al., Associations of the apolipoprotein A1/C3/A4/A5 gene cluster with triglyceride and HDL cholesterol levels in women with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 2007. 192(1): p. 204-10.
9. 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.
10. Song, K.H., et al., Association of apolipoprotein A5 gene -1131T>C polymorphism with the risk of metabolic syndrome in Korean subjects. *Biomed Res Int*, 2013. 2013: p. 585134.
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.
12. Klos, K.L., et al., APOA5 polymorphisms influence plasma triglycerides in young, healthy African Americans and whites of the CARDIA Study. *J Lipid Res*, 2005. 46(3): p. 564-71.

Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:
Академич Л.Лхагва