

О.В. Калюжная, Т.А. Баирова, В.В. Долгих, С.И. Колесников

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА S1/S2 (C3238G, RS5128) АПОЛИПОПРОТЕИНА C3 В ЕВРОПЕЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)*

Изучена распространенность генотипов и аллелей полиморфного маркера S1/S2 гена аполипопротеина C3 (C3238G, rs5128) в группе здоровых подростков европеоидной расы (русских) проживающих на территории Восточной Сибири. Материалом для исследования являлась ДНК выделенная из венозной крови, генотип для каждого образца определяли методом ПЦР-ПДРФ. В исследованной выборке в 88,9 % случаев встречался генотип S1/S1, генотип S1/S2 – в 8,6 %, S2/S2 – в 2,5 %. Доля аллеля S2 составила 6,8 %, что достоверно не отличается от ранее исследованных европеоидных популяций.

Ключевые слова: аполипопротеин C3, S1/S2, аллель, генотип

STUDY OF APOLIPOPROTEIN C3 S1/S2 (C3238G, RS5128) POLYMORPHISM IN CAUCASIAN POPULATION OF EASTERN SIBERIA

O.V. Kalyuzhnaya, T.A. Bairova, V.V. Dolgikh, S.I. Kolesnikov

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

The prevalence of genotypes and alleles of polymorphic marker S1/S2 Apolipoprotein C3 in healthy adolescent Caucasians (Russians) living in Eastern Siberia was studied. Material for research was the DNA extracted from the venous blood; genotype was determined by PCR-RFLP for each sample. In the studied sample in 88.9 % of cases genotype S1/S1 was detected, genotype S1/S2 was found in 8.6 %, S2/S2 – in 2.5 %. The share of S2 allele was 6.8 %, which is not significantly different from the previously studied Caucasian populations.

Key words: apolipoprotein C3, S1/S2, allele, genotype

ВВЕДЕНИЕ

Аполипопротеин C3 (АпоС3) – белок, состоящий из 79 аминокислотных остатков, относится к одному из основных компонентов липидтранспортной системы крови человека. АпоС3 составляет более 50 % белковых компонентов липопротеинов низкой плотности ЛПНП, синтезируется в гепатоцитах печени и в небольшом количестве в кишечнике. Одна из основных функций АпоС3 ингибирование липаз, ферментов расщепляющих триглицериды (ТГ) хиломикрон и липопротеинов очень низкой плотности ЛОПНП, регулируя, таким образом, уровень триглицеридов и ЛПОНП в плазме крови [1, 2].

Ген аполипопротеина C3 – *APOC3* локализован в 11-й хромосоме человека (11q23.3) в одном кластере с основными генами белков липидтранспортной системы – *APOA1*, *APOC4* и *APOA5*. [7, 12]. Замена нуклеотида цитозина на гуанин в некодирующей области гена, известного, как полиморфный маркер C-3238G или S1/S2 (rs5128), приводит к повышению экспрессии белка АпоС3, ингибированию ЛПЛ и, как следствие, увеличению содержания ТГ и ЛПНП в плазме крови. Это определяет сдвиг липидного спектра в сторону проатерогенности и увеличивает риск, возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и ожирения. Таким образом, носительство аллеля S2 в гетерозиготном (S1/S1) или гомозиготном (S2/S2) состоянии является рисковым относительно частоты возникновения заболеваний [3, 6, 11].

Частота встречаемости в различных популяциях и этнических группах мира рискового аллеля S2 варьирует от 8 до 31 % [3–6, 8–11, 13]. В европейских популяциях она составляет 8–9 % [8,

11, 13]. Изучение распространенности генотипов и аллелей полиморфного маркера S1/S2 гена *APOC3* в популяции необходимо для предсказания частоты возникновения заболеваний сердечно-сосудистой системы, атеросклероза и ожирения в исследуемой популяции.

Целью данной работы являлось изучение распространенности аллелей и генотипов полиморфного маркера S1/S2 гена *APOC3* в европейской популяции Восточной Сибири на примере русских, а также сравнение распространенности рискового аллеля S2 в изучаемой выборке с распространенностью данного аллеля в ранее изученных популяциях мира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись подростки русской национальности, проживающие на территории Восточной Сибири. Набор материала производился в ходе экспедиционных работ в период с 2009 по 2013 гг. в поселках Баяндай и Мишелевка Иркутской области. Участники исследования (подростки, их родители и опекуны) проходили анкетирование для определения этнической принадлежности до третьего поколения, все участники были информированы о научной направленности работы и дали свое согласие на исследование. В исследуемую группу включали подростков, относящихся к I–II группе здоровья. Всего обследован 81 подросток. В работе соблюдались этические принципы, установленные Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, ред. 2000).

Для генетического исследования в вакуумные пробирки с 3% ЭДТА отбирали цельную венозную

кровь из локтевой вены. Суммарную ДНК из лейкоцитарной фракции крови выделяли сорбентным методом при помощи коммерческих наборов «АмплиПрайм ДНК-сорб-В», ООО «ИнтерЛабСервис» (Россия, Москва) согласно методике, прилагаемой к наборам. Генотипирование образцов по полиморфному маркеру *S1/S2* гена *АРОС3* проводили методом полимеразной цепной реакции с дальнейшим анализом длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ), используя коммерческие наборы производства (ООО «ГенЭксперт», Россия, Москва).

Праймеры используемые для постановки ПЦР имели следующие последовательности: прямой праймер: 5'-ААТААТААААТСАТААААСТСАТАГСАГСТТСТТГТ-3', обратный праймер: 5'-ААТААТААААТСАТАААСТГССАТССАТСССТТ-3'. ПЦР проводили по программе, приведенной в инструкции к наборам, в автоматическом термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, Россия, Москва). Рестриктирование продуктов амплификации по специфическому сайту проводили с помощью рестриктазы TaqI (НПО «СибЭнзим», Россия, Новосибирск), при температуре 65 °С. После проведения рестрикции фрагменты ДНК анализировали электрофорезом в 7% полиакриламидном геле (при соотношении акриламид : бис-акриламид – 29 : 1) с дальнейшей окраской бромистым этидием. Электрофореграммы фотографировали при помощи геле-документирующей системы Gel Imager (Хеликон, Россия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Biostatistics» V4.03. Для сравнения частоты встречаемости генотипов и аллелей изучаемого гена использовали критерия χ^2 (хи квадрат) с поправкой Йейтса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (5 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате генотипирования в исследуемой выборке были обнаружены все три генотипа (*S1/S1*, *S1/S2* и *S2/S2*) гена *АРОС3*. Наиболее распространенным является гомозиготный генотип *S1/S1*, встречающийся в 88,9 % случаев ($n = 72$). Носительство гетерозиготного генотипа *S1/S2* обнаружено в 8,6 % ($n = 7$), гомозиготного *S2/S2* – в 2,5 % случаев ($n = 2$). Доля аллеля *S1* в изучаемой выборке составила 93,2 %, аллеля *S2* – 6,8 % (табл. 1). Распространенность генотипов и аллелей полиморфного локуса *S1/S2* гена *АРОС3* (rs5128) соответствовала равновесию Харди – Вайнберга ($\chi^2 = 0,61$; $p < 0,05$).

Таблица 1
Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфного маркера *S1/S2* гена *АРОС3* в исследуемой группе ($n = 81$)

Генотипы	n (%)
<i>S1/S1</i>	72 (88,9 %)
<i>S1/S2</i>	7 (8,6 %)
<i>S2/S2</i>	2 (2,5 %)
Аллели	%
<i>S1</i>	93,2
<i>S2</i>	6,8

Примечание: n – количество человек, носителей генотипа.

При сравнении распространенности аллеля *S2* в изучаемой группе русских подростков с распространенностью в популяциях мира, оказалось, что аллель *S2* (6,8 %) в русской популяции встречался реже, чем в ранее изученных европейских популяциях (Италия, Англия – 8,6 %, Голландия – 9 %). Однако эти различия не достигали статистической значимости (табл. 2).

Таблица 2
Распространенность аллеля *S2* полиморфного маркера *S1/S2* гена *АРОС3* в популяциях мира

Популяция (численность выборки)	Доля аллеля <i>S2</i> (%)	p	Источник
Русские* (82)	6,8	–	–
Европейцы, Италия (251)	8,6	0,588	[6]
Европейцы, Англия (2485)	8,6	0,501	[8]
Европейцы, Голландия (110)	9	0,532	[9]
Корея (92)	24,5	0,0001	[10]
Западный Китай (491)	28,6	0,0001	[11]
Иран (75)	28,3	0,0001	[5]
Северная Индия (139)	31,3	0,0001	[13]

Примечание: * – настоящее исследование; p – уровень статистической значимости.

Статистически значимые отличия ($p < 0,0001$) в изучаемой нами выборке русских, обнаружены с ранее изученными популяциями Кореи, Китая, Ирана и Индии, в азиатских, арабских и индийских популяциях аллель *S2* составляет от 24 до 31 % (табл. 2) [3, 4, 5, 9, 10]. Авторы этих работ предполагают, что высокая частота встречаемости аллеля *S2* гена *АРОС3* может быть связана с высокой чувствительностью к повышению уровня ТГ в крови, и с высокой генетической предрасположенностью популяции к гипертриглицеридемии и атеросклерозу [4, 5, 10].

По данным S. Chhabra et al. (2002), аллель *S2* изучаемого полиморфизма является маркером риска возникновения гипертриглицеридемии в индийской популяции, так как у носителей данного аллеля склонность к гипертриглицеридемии выше в 3,2 раза, чем у носителей *S1/S1* генотипа, а высокая распространенность данного рискового аллеля в популяциях может стать причиной резкого увеличения числа сердечно-сосудистых патологий в будущем [5].

Таким образом, изучение распространенности аллеля *S2* изучаемого полиморфного локуса в различных популяции и этнических группах представляет практический интерес для предиктивной медицины, как один из маркеров риска заболевании сердечно-сосудистой системы и ожирения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования показана распространенность генотипов и аллелей полиморфного маркера *S1/S2* ген Аполипопротеин С3 (*АРОС3*) в европейской популяционной (на примере русских подростков) проживающих на территории Восточной Сибири. Показано, что частота встречаемости аллеля *S2* в исследуемой популяции составила 6,8 %.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-5646.2014.7

ЛИТЕРАТУРА

1. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения; 3-е изд. – СПб.: Питер Ком, 1999. – 512 с.
Klimov A.N., Nikulcheva N.G. Exchange of lipids and lipoproteins and its disorders; 3rd ed. – St. Petersburg: Piter Kom, 1999. – 512 p. (in Russian)
2. Творогова М.Г. Аполипопротеины – свойства, методы определения, клиническая значимость // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 29–37.
Tvorogova M.G. Apolipoproteins – properties, methods of determining the clinical significance // Laboratornaya meditsina. – 2005. – N 7. – P. 29–37. (in Russian)
3. Bandegi A.R., Firoozrai M., Akbari E.M.R., Kokhaei P. SstI Polymorphism of the Apolipoprotein CIII Gene in Iranian Hyperlipidemic Patients: A Study in Semnan Province // Iranian J. Basic Med. Sciences. – 2011. – Vol. 14, N 6. – P. 506–513.
4. Chhabra S., Agarwal D.P., Vasisht S., Luthra K. et al. Study of Apolipoprotein C3 SstI polymorphism in healthy volunteers from Northern India // Ind. J. Clin. Biochem. – 2003. – Vol. 18, N 2. – P. 34–38.
5. Chhabra S., Narang R., Krishnan L.R., Vasisht S. et al. Apolipoprotein C3 SstI polymorphism and triglyceride levels in Asian Indians // BMC Genetics. – 2002. – Vol. 3, N 9.
6. Ghattas M., Badawy H., Mesbah N., Abo-Elmatty D. Apolipoprotein CIII 3238C/G Gene polymorphism influences oxidized low-density lipoprotein with a risk of essential hypertension // J. Biochem. Pharmacol. Res. – 2013. – Vol. 1, N 3. – P. 143–147.
7. Groenendijk M., Cantor R.M., de Bruin T.W., Dallinga-Thie G.M. The apoA1-CIII-AIV gene cluster // Atherosclerosis. – 2001. – N 157. – P. 1–11.
8. Hoffer M.J.V., Sijbrands E.J.G., de Man F.H.A.F., Havekes L.M. et al. Increased risk for endogenous hypertriglyceridaemia is associated with an apolipoprotein C3 haplotype specified by the SstI polymorphism // Eur. J. Clin. Invest. – 1998. – N 28. – P. 807–812.
9. Hong S.H., Park W.H., Lee C.C., Hong J.H. et al. Association between genetic variations of apo A1-CIII-AIV cluster gene and hypertriglyceridemic subjects // Clin. Chem. – 1997. – N 43. – P. 13–17.
10. Liu H.K., Li X.F., Zhang S.Z., Ren Y. et al. Association of Sst I polymorphism in apolipoprotein C3 gene with hypertriglyceridaemia in coronary atherosclerotic heart disease and type II diabetes mellitus in Chinese population // Acta Genetica Sinica. – 2005. – Vol. 32, N 1. – P. 11–18.
11. Olivieri O., Stranieri C., Bassi A., Zaia B. [et al.]. ApoC-III gene polymorphisms and risk of coronary artery disease // J. Lipid Res. 2002. № 43. P. 1450–1457.
12. Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Cohen J.C. et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing // Science. – 2001. – N 294. – P. 169–173.
13. Russo G.T., Meigs J.B., Cupples L.A., Demissie S. 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. – N 158. – P. 173–181.

Сведения об авторах

Калужная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: kaluzhnayaO@yandex.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Долгих Владимир Валентинович – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Колесников Сергей Иванович – Академик РАН, советник РАН

Information about the authors

Kalyuzhnaya Olga Viktorovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003; e-mail: kaluzhnayaO@yandex.ru)

Bairova Tatiana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Dolgich Vladimir Valentinovich – Doctor of Medical Sciences, Deputy Director of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Kolesnikov Sergei Ivanovich – Academician of RAS, counsellor of RAS