

УДК 575.165

ИЗУЧЕНИЕ ВКЛАДА ГЕНОВ АПОЛИПОПРОТЕИНА С-3 (АРОС-3) И АПОЛИПОПРОТЕИНА А-1 (АРОА-1) В СОСТОЯНИЕ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

© 2011 Р.Д. Каюмова, Л.Р. Каюмова, Е.В. Воробьёва, В.Ю. Горбунова

ГОУ ВПО «Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акумуллы», г. Уфа

Поступила 04.07.2011

Рассмотрено влияние полиморфных вариантов генов АРОА-1 и АРОС-III, продукты которых участвуют в метаболизме липидов, на уровень основных показателей липидного профиля сыворотки крови человека.

Ключевые слова: липидный профиль, ген, полиморфный вариант, апополипротеин А-1, С-3.

В настоящее время не вызывает сомнений, что одним из ведущих факторов проявления сердечно-сосудистых заболеваний является повышение концентраций общего холестерина в крови, и особенно холестерина, содержащегося в липопротеинах низкой плотности и триглицеридах.

Генетические факторы наряду со средовыми играют важную роль в детерминации нарушений липидного обмена в организме человека. Своевременная диагностика липидного спектра крови позволяет выявлять на ранних этапах атеросклеротические изменения сосудистой стенки. Следовательно, стало необходимым изучение ассоциаций полиморфных вариантов генов, вовлеченных в регуляцию метаболизма липидов с основными показателями липидного профиля сыворотки крови человека.

Аполипопротеин А-1 (АРОА-1) представляет собой полипептид, содержащий 245 аминокислотных остатков с молекулярной массой 28,3 кДа [1].

АРОА-1 человека составляет около 70% общей массы белка в липопротеине высокой плотности (ЛПВП), что указывает на его важную структурную роль. Аполипопротеин А-1 также участвует в обратном транспорте холестерина из периферических тканей в печень, обеспечивая связывание частицы ЛПВП с соответствующими рецепторами, обладает антиоксидантными и противовоспалительными свойствами и, как предполагается, может выступать в роли сигнальной молекулы [2]. В дополнение к этому, АРОА-1 является активатором фермента лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ), который участвует в реакции этерификации холестерина [1].

Ген, кодирующий апополипротеин А-1 (АРОА-1) локализован на хромосоме 11q23.1-q23.2. Известно, что главными местами экспрессии гена АРОА-1 и синтеза белка АРОА-1 у человека являются гепатоциты печени и энтероциты тонкой кишки. Экспрессия гена АРОА-1 обнаружена также в плаценте, сердце, хрящевой ткани [3].

Каюмова Регина Дамировна, e-mail: kajumovar@mail.ru; Каюмова Лилия Раилевна, e-mail: kayumovalr@mail.ru; Воробьёва Елена Владимировна, канд. биол. наук, e-mail: vorobevaev@rambler.ru; Горбунова Валентина Юрьевна, докт. биол. наук, проф., e-mail: obg_bspu@mail.ru.

Полиморфный вариант А-75G гена апополипротеина А-1 (АРОА-1) обусловлен нуклеотидной заменой А на G в -75 позиции промоторной области описываемого гена.

Другим важным апополипротеином, рассмотренным в рамках данной работы явился апополипротеин С-3. Аполипопротеин С-3 – один из основных компонентов богатых триглицеридами липопротеинов (хиломикрон и липопротеинов очень низкой плотности), входит в состав липопротеинов высокой плотности. Содержит 79 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу 8764 кДа. В зависимости от количества молекул сиаловой кислоты различают три изопротеина, выявляемые при изоэлектрофокусировании [1]. Ген апополипротеина С-3 (АРОС-3) локализован на хромосоме 11q23.3 и находится в кластере генов АРОА-1 и АРОА-4 в пределах 15-кб. Экспрессируется главным образом в клетках печени [4]. Полиморфный вариант SstI обусловлен нуклеотидной заменой С на G в 3238 положении 3' нетранслируемой области гена АРОС-3.

Многочисленные исследования показывают связь между наличием описываемого полиморфного варианта SstI гена АРОС-III с повышенной концентрацией белка АРОС-III и высоким уровнем триглицеридов (ТГ) [6-10], а также с повышенным риском развития ИБС [11, 12].

Целью настоящего исследования явился анализ ассоциаций полиморфных аллелей гена апополипротеина С-3 (АРОС-3) и гена апополипротеина А-1 (АРОА-1) с основными показателями липидного профиля сыворотки крови человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использованы образцы ДНК 282 здоровых индивидов в возрасте от 18 до 65 лет, проживающих на территории Республики Башкортостан. Образцы ДНК получены из цельной венозной крови после медицинского осмотра с письменного согласия испытуемых.

При анализе ассоциаций изученных полиморфных локусов с основными показателями липидного профиля вся исследованная выборка была разделена на группы в соответствии с показателями липидного профиля: 1 группа – лица, имеющие пока-

затели липидного профиля в норме (156 чел.) и 2 группа – лица, имеющие показатели липидного профиля отличные от нормы (126 чел.).

Материалом для проведения биохимических анализов послужила сыворотка крови, взятая без следов гемолиза. Перед взятием крови испытуемые соблюдали строгую диету (минимум 12 ч). Кровь взята из вены. После осуществления забора крови сыворотка была отделена от эритроцитов и использована для проведения биохимических анализов.

Концентрация основных показателей липидного профиля: общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови определены ферментным методом реактивами фирмы “Cormay” (Германия) на анализаторе «Флюорат-02-АБЛФ-Т» (Россия).

Материалом для проведения молекулярно-генетического исследования служили образцы ДНК, полученные методом фенольно-хлороформной экстракции [13].

Анализ полиморфных ДНК-локусов: *APOA-1* (A-75G), *APOC-3* (C3238G) осуществляли методом ПЦР-ПДРФ [5] с использованием соответствующих праймеров и специфических эндонуклеаз рестрикции [6].

Разделение фрагментов ДНК после амплификации и рестрикции проводили при помощи электрофореза в 7% полиакриламидном и 1,5% агарозном гелях, окрашенных бромистым этидием с последующей визуализацией ДНК в УФ-свете.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программного

обеспечения MS Excel XP (“Microsoft»), пакета программ SPSS (версия 13.0) [15]. Соответствие эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди-Вайнберга оценивали по критерию χ^2 [14]. Варьирование концентраций ОХС у лиц с различными генотипами оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа. Для всех видов анализа статистически значимыми считали значения при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При попарном сравнении частот аллелей и генотипов как в выборке лиц, имеющих концентрации ОХС в норме, так и в группе лиц, имеющих высокие концентрации ОХС не выявлено достоверно значимых различий между мужчинами и женщинами. Поэтому при анализе ассоциаций половую принадлежность во внимание не принимали. С целью выявления ассоциаций изученных полиморфных вариантов рассматриваемых генов нами проведен сравнительный анализ двух групп, разделенных в соответствии со значениями ОХС.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта A-75G гена *APOA-1* выявил достоверное понижение аллеля *APOA-1* *A ($P=0.0486$; $\chi^2=3.8904$) и генотипа *APOA-1* *A/*A ($P=6.0233$; $\chi^2=0.0148$), а также повышение генотипа *APOA-1* *A/*G ($P=5.0463$; $\chi^2=0.0206$) в группе лиц, имеющих показатели ОХС выше нормы (таб.).

Таблица. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта A-75G гена аполипопротеина A-1 (*APOA-1*)

Группы	Частота генотипов и аллелей, % (p)									
	A/A		A/G		G/G		A		G	
	n	pi±Si	n	pi±Si	n	pi±Si	n	pi±Si	n	pi±Si
Низкий уровень (ОХС<5,2 ммоль/л)	47	50,54±5,19	40	43,01±5,13	6	6,45±2,55	134	72,04±3,29	52	27,96±3,29
Высокий уровень (ОХС>5,2 ммоль/л)	1	8,33±7,98	10	83,33±10,76	1	8,33±7,98	12	50±10,2	12	50±10,2
χ^2 (P)	6,0233 (0,0148)		5,4063 (0,0206)		0,0005 (1,0005)		3,8904 (0,0486)			

В результате однофакторного дисперсионного анализа было выявлено статистически значимое влияние генотипа *APOA-1* A/A ($F=4,967$; $P=0,028$) на понижение концентраций триглицеридов (ТГ).

Выявлено достоверное влияние аллеля *APOA-1* G ($F=4,967$; $P=0,028$) и генотипа *APOA-1* A/G ($F=7,862$; $P=0,006$) на повышение концентраций триглицеридов (ТГ).

В связи с имеющимися литературными данными об ассоциации C3238G гена аполипопротеина C-3 (*APOC-3*) с атерогенными сдвигами липидного профиля: повышенным уровнем триглице-

ридов, ЛПНП и аполипопротеина В [6-12], нами проведен поиск возможных ассоциаций данного полиморфного варианта с уровнем основных показателей липидного профиля.

В результате проведенного сравнительного и дисперсионного видов анализа нами не выявлено достоверно значимых различий между группой лиц, имеющих изученные показатели в пределах нормы и группой лиц, имеющих высокие уровни (или низкие в случае рассмотрения концентрации ЛПВП) показателей липидного спектра.

Таким образом, полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют о том, что генетические варианты генов аполипопротеина А-1 (*APOA-1*) и гена аполипопротеина С-3 (*APOC-3*) маркируемые как *A-75G* и *C3238G* вносят вклад в детерминацию нарушений метаболизма липидов. В частности у жителей Республики Башкортостан генетическими маркерами нарушений липидного обмена может являться аллель *APOA-1 G* и *APOA-1 A/G*.

Работа выполнена в «Центре молекулярно-генетических исследований» при кафедре генетики БГПУ им. М. Акмуллы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. СПб.: Питер Ком, 1999. 512 с.
2. Кольман Я., К.-Г. Рем. Наглядная биохимия. М.: Мир, 2000. С. 393.
3. Могиленко Д.А. Регуляция экспрессии гена аполипопротеина А-1 человека при действии фактора некроза опухоли альфа: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2010.
4. Talmud P.J., Humphries S.E. Apolipoprotein C-III gene variation and dyslipidaemia // *Curr. Opin. Lipidol.* 1997. P. 154-158.
5. Chhabra S., Narang R., Krishnan L.R. et al. Apolipoprotein C3 SstI polymorphism and triglyceride levels in Asian Indians // *BMC Genet.* 2002. V. 3. P. 9.
6. Espino-Montoro A., Barrios-Artillo M., López-Chozas J.M. et al. 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. V. 13. P. 194-201.
7. Garenc C., Couillard C., Laflamme N. et al. Effect of the APOC3 SstI SNP on fasting triglyceride levels in men heterozygous for the LPL P207L deficiency // *Eur. J. Hum. Genet.* 2005. V. 13. P. 1159-1165.
8. Waterworth D.M., Talmud P.J., Bujac S.R. et al. Contribution of apolipoprotein C-III gene variants to determination of triglyceride levels and interaction with smoking in middle-aged men // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000. V. 20. P. 2663-2669.
9. Wu J.H., Kao J.T., Wen M.S., Lo S.K. DNA polymorphisms at the apolipoprotein A1-CIII loci in Taiwanese: correlation of plasma APOCIII with triglyceride level and body mass index // *J. Formos. Med. Assoc.* 2000. V. 99. P. 367-374.
10. Baroni M.G., Berni A., Romeo S. et al. 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. V. 4. P. 8.
11. Tsai M.Y., Ordovas J.M. APOC3 mutation, serum triglyceride concentrations, and coronary heart disease // *Clin. Chem.* 2009. V. 55. P. 1274-1276.
12. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // *Methodes in Molecular Biology.* V. 2 / Ed. Walker I. M Y.I. Human press, 1984. P. 31-34.
13. Roff P., Betzen H. The statistical analysis of DNA polymorphism chi 2 and problem of small samples // *Mol. Biol. Evol.* 1989. V. 6. P. 539-545.
14. <http://www.spss.com>

STUDY OF THE CONTRIBUTION OF GENES APOLIPOPROTEIN C-3 (*APOC-3*) AND APOLIPOPROTEIN A-1 (*APOA-1*) IN THE STATUS LIPID PROFILE OF HUMAN SERUM

© 2011 R.D. Kayumova, L.R. Kayumova, E.V. Vorobeva, V.Yu. Gorbunova

Bashkir State Pedagogical University named by M. Akmulla, Ufa

In this article we examine the effect of polymorphic variants of genes APOA-I and APOC-III, whose products are involved in lipid metabolism, the level of the main indicators of the lipid profile of human serum.

Key words: lipid profiles, gene polymorphisms, apolipoprotein A-1, C-3.