

С.И. Колесников¹, Т.А. Байрова², О.В. Калюжная², **А.А. Трухин**, О.А. Ершова²,
М.А. Даренская²

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА А1 И ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР СЫВОРОТКИ КРОВИ В ПОПУЛЯЦИЯХ ЭВЕНКОВ И БУРЯТ

¹ Российская академия наук, Москва, Россия

² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

Изучена распространенность генотипов и аллелей полиморфных маркеров (-75)G>A и (+83)C>T гена аполипопротеина А1 (APOA1) в выборках из двух этнических групп Восточной Сибири: эвенков и бурят. Доля аллеля (-75)A у эвенков составила 22,7 %, у бурят – 22,4 %. Доля аллеля (+83)T в группе эвенков – 6,3 %, в группе бурят – 5,9 %. Статистически значимых отличий распространенности генотипов и аллелей гена APOA1 между эвенками и бурятами не выявлено. Проведен сравнительный анализ показателей липидограммы крови у носителей разных генотипов.

Ключевые слова: аполипопротеин, липиды, ген

POLYMORPHISM OF APOLIPOPROTEIN A1 GENE AND LIPID PROFILE OF BLOOD SERUM IN THE EVENKI AND BURYAT POPULATIONS

S.I. Kolesnikov¹, T.A. Bairova², O.V. Kalyuzhnaya², **A.A. Trukhin**, O.A. Ershova²,
M.A. Darenskaya²

¹ Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

The prevalence of genotypes and alleles of polymorphic markers (-75)G>A and (+83)C>T apolipoprotein A1 gene (APOA1) in samples of ethnic groups from Eastern Siberia (the Evenkis and Buryats) were studied. In the Evenki population allele (-75)A was registered in 22,7 % cases, in the Buryat population – in 22,4 % cases. In the Evenki population allele (+83)T was found in 6,3 % cases, in the Buryat population – in 5,9 % cases. Statistically significant differences of genotypes and alleles APOA1 prevalence between the Evenkis and the Buryats was not found. The prevalence of alleles (-75)G>A and (+83)C>T of gene APOA1 obtained in the study were compared with the prevalence in different populations around the world. For each teenager in the study group we conducted a biochemical analysis of serum lipid profile. Also a comparative analysis of blood lipid profile in carriers of different genotypes was carried out. Comparative analysis of blood lipid profile in carriers of different genotypes was conducted.

Key words: apolipoprotein, lipids, gene

ВВЕДЕНИЕ

Аполипопротеины – это белковая часть липидных комплексов, посредством которых липиды переносятся кровью в организме. Они обеспечивают свойства растворимости, покрывая собой нерастворимое в воде ядро из холестерина. Липопротеины связываются с холестерином и триглицеридами и обеспечивают транспорт этих липидов к органам и тканям. Липопротеины высокой плотности (ЛПВП) содержат так называемый «хороший» холестерол. Они являются единственным физиологическим фактором, обеспечивающим освобождение клеток от избытка холестерина. ЛПВП транспортируют холестерол от тканей в печень, где он выводится из организма или подвергается биохимическим превращениям в целях утилизации. Аполипопротеин А имеет две формы: аполипопротеин А1, преобладающий в организме, и аполипопротеин А2, которого примерно в 3 раза меньше, чем аполипопротеина А1. Для оценки риска сердечно-сосудистых заболеваний чаще всего используют определение первой формы аполипопротеина А (АpoA1), снижение концентрации которого свидетельствует о повышении вероятности атеросклеротических изменений [3, 7].

Ген аполипопротеина А1 (APOA1) длиной в 1895 пар нуклеотидов локализован в 11-й хромосоме человека (11q23.3) в одном кластере с генами APOC3,

APOC4 и APOA5, продукт гена представляет собой полипептид длиной 243 аминокислотных остатка. В настоящий момент для гена APOA1 описано 178 полиморфных локусов (однонуклеотидных замен). К наиболее изученным полиморфным локусам относятся (-75)G>A (замена гуанина на аденин, rs670) и (+83)C>T (замена цитозина на тимин, rs5069) в регуляторной области гена. Показана ассоциация аллелей (-75)A и (+83)T с более низким уровнем экспрессии гена APOA1, уменьшением количества аполипопротеина А1 и ЛПВП в крови человека и, соответственно, с увеличением риска развития атеросклеротических поражений сосудов [6, 15]. Изучена ассоциация полиморфных вариантов генов APOA1 с развитием дислипидемии и ассоциированных с ней сердечно-сосудистых патологий [17, 18].

Целью данного исследования является изучение распространенности полиморфизмов (-75)G>A и (+83)C>T гена APOA1 у представителей двух этнических групп Восточной Сибири: эвенков и бурят, а также поиск ассоциации данных полиморфизмов с показателями липидограммы в каждой из изучаемых выборок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 118 здоровых подростков в возрасте от 12 до 16 лет, разделенных на группы по этнической принадлежности: эвенки (n = 64) и

буряты ($n = 54$). Набор материала производился в ходе экспедиционных работ в поселках Баяндай и Ербогачён Иркутской области в период с 2009 по 2013 гг. Этническую принадлежность каждого подростка определяли методом анкетирования с учетом указаний на национальную принадлежность предков до третьего поколения. Все участники исследования, их родители (или опекуны) были информированы о научной направленности исследований и дали свое согласие на участие в совместной работе. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2000 ред.).

Для исследования отбирали цельную венозную кровь из локтевой вены в вакуумные пробирки с 3%-й ЭДТА. Для генетического анализа из крови выделяли суммарную ДНК сорбентным методом с использованием набора «ДНК-сорб-В» производства ФГУН ЦНИИ Роспотребнадзора по прилегаемой к набору методике. Генотипирование образцов проводили методом ПЦР-ПДРФ, используя коммерческие наборы производства ГосНИИГенетика. Прямой и обратный праймеры имели следующие последовательности: 5'-GACCTGGAGGAGAAGAAG-3' и 5'-TGTTTGCCCACTCTATTGG-3'. ПЦР проводили по программе, приведенной в инструкции к наборам, в автоматическом термоциклере «Терцик» (ДНК-технология). Продукты амплификации подвергали рестрикционному анализу с помощью рестриктаз HpaII и MsPI (НПО «СибЭнзим», Россия, Новосибирск). После проведения рестрикции фрагменты ДНК анализировали в 7%-м полиакриламидном геле с окраской бромистым этидием.

Параллельно был проведен биохимический анализ липидного профиля сыворотки крови у каждого подростка из исследуемых групп. В липидный профиль входило определение содержания общего холестерина (ОХ), холестерина в составе липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП) и триацилглицеридов (ТГ). Анализ проводили на автоматическом фотометрическом анализаторе ВТС-330 (Испания) с помощью наборов Bio System (Испания). Холестерин липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП) рассчитывали по формуле: $ХС-ЛПНП = ОХ - (ХС-ЛПВП + ТГ / 2,2)$.

Коэффициент атерогенности (КА) рассчитывали по формуле: $КА = (ОХ - ХС-ЛПВП) / ХС-ЛПВП$.

Полученные данные были статистически обработаны с помощью программы «Biostatistics» v4.03 с использованием критерия χ^2 (хи-квадрат) и критерия Крускала – Уоллиса. Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди – Вайнберга использовали критерий χ^2 Пирсона. Статистически значимыми значениями принимали при уровне $p < 0,05$ (5 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлено распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов (-75)G>A и (+83)C>T гена APOA1 в исследуемых выборках подростков. В группе эвенков доля аллеля (-75)A полиморфного локуса (-75)G>A составила 22,7 % в группе бурят – 23,1 %. Аллель (+83)T полиморфного локуса (+83)C>T встречалась в 7,3 % случаев: в группе эвенков – в 6,3 %, в группе бурят – в 5,9 %. В обеих группах не было обнаружено носителей генотипа (+83)T/T полиморфного локуса (+83)C>T. Распределение генотипов полиморфных маркеров соответствовало равновесию Харди – Вайнберга в изучаемых группах. При сравнительном анализе распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов (-75)G>A и (+83)C>T гена APOA1 между изучаемыми этническими группами статистически достоверных различий не выявлено.

Распространенность минорных аллелей полиморфизмов (-75)G>A и (+83)C>T гена APOA1 в различных популяциях мира и их сравнение с собственными данными представлена в таблицах 2 и 3 соответственно.

Частота минорного аллеля (-75)A в обеих исследуемых группах значимо выше, чем в выборке жителей Южной Нигерии ($p < 0,0001$), но ниже, чем в популяции Северной Индии ($p = 0,003$ и $p = 0,006$ соответственно). Статически значимые различия получены при сравнении распространенности аллеля (-75)A среди эвенков и популяции из Южного Китая.

Распространенность аллеля (+83)T широко варьирует в разных популяциях (табл. 3). Статистически значимые различия выявлены при сравнении собственных результатов с данными других исследователей, изучавшими распространенность полимор-

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей (-75)G>A и (+83)C>T гена APOA1 в исследуемых группах

Этническая группа	Частота генотипов и аллелей полиморфного маркера (-75)G>A гена ApoA1					
	G/G, n (%)	G/A, n (%)	A/A, n (%)	G, %	A, %	p
Эвенки	39 (60,9)	21 (32,8)	4 (6,3)	77,3	22,7	0,327
Буряты	30 (55,6)	23 (42,6)	1 (1,8)	76,9	23,1	
Этническая группа	Частота генотипов и аллелей полиморфного маркера (+83)C>T гена ApoA1					
	C/C, n (%)	C/T, n (%)	T/T, n (%)	C, %	T, %	p
Эвенки	56 (87,5)	8 (12,5)	0	93,7	6,3	0,950
Буряты	48 (89)	6 (11)	0	94,4	5,6	

Примечание (здесь и далее). n – количество человек-носителей генотипа; p – статистическая значимость различий.

Таблица 2

Распространенность аллеля (-75)A гена APOA1 в популяциях мира

Популяция (n)	Аллель (-75)A, %	P		Источник
		Эвенки	Буряты	
Южная Нигерия (786)	10,1	< 0,0001	< 0,0001	[12]
Турция (1515)	15,9	ND	ND	[4]
Германия (европеоиды) (500)	18,0	ND	ND	[16]
Бразилия (414)	18,1	ND	ND	[14]
США (европеоиды) (460)	20,0	ND	ND	[18]
Аргентина (97)	20,6	ND	ND	[9]
Южная Индия (185)	21,0	ND	ND	[13]
Сингапур (индийцы) (326)	21,0	ND	ND	[11]
Австралия (европеоиды) (243)	22,1	ND	ND	[18]
Тунис (105)	22,3	ND	ND	[10]
Сингапур (китайцы) (467)	30,0	ND	ND	[11]
Сингапур (малазийцы) (283)	31,0	ND	ND	[11]
Южный Китай (300)	32,5	0,037	ND	[14]
Китай (Пекин) (103)	24,8	ND	ND	[8]
Япония (104)	17,3	ND	ND	[8]
Вьетнам (99)	31,3	ND	ND	[8]
Северная Индия (50)	42,0	0,003	0,006	[5]
Эвенки (64)	22,7	-	-	-
Буряты (54)	23,1	-	-	-

Таблица 3

Распространенность аллеля (+83)T гена APOA1 в популяциях мира

Популяция (n)	Доля аллеля (+83)T, %	P		Источник
		Эвенки	Эвенки	
Сингапур (индийцы) (326)	2,0	0,015	0,062	[11]
Сингапур (малазийцы) (283)	3,0	ND	ND	[11]
Германия (европеоиды) (499)	3,0	ND	ND	[16]
Сингапур (китайцы) (467)	4,0	ND	ND	[11]
Австралия (европеоиды) (243)	4,1	ND	ND	[17]
Южная Индия (185)	4,3	ND	ND	[13]
Тунис (105)	4,3	ND	ND	[10]
Китай (Пекин) (103)	7	ND	ND	[8]
Китай (Южный Китай) (105)	4,8	ND	ND	[8]
Япония (104)	1,9	ND	ND	[8]
Вьетнам (99)	6,6	ND	ND	[8]
Нигерия (99)	37	< 0,0001	< 0,0001	[8]
Кения (99)	26	< 0,0001	< 0,0001	[8]
Сьерра-Леоне (85)	40	< 0,0001	< 0,0001	[8]
Нигерия (108)	34	< 0,0001	< 0,0001	[8]
Эвенки (64)	6,3	ND	ND	-
Буряты (54)	5,6	ND	ND	-

Таблица 4

Средние показатели липидного профиля при различных генотипах гена АРОА1 в исследуемых группах

Полиморфизм	(-75)G>A			(+83)C>T		
	Эвенки					
Показатель	G/G	G/A + A/A	p	C/C	C/T	p
ОХ	4,8 ± 0,54	4,98 ± 0,67	p = 0,741	4,87 ± 0,55	4,84 ± 0,48	p = 0,923
ТГ	0,89 ± 0,31	0,98 ± 0,35	p = 0,150	0,89 ± 0,31	0,96 ± 0,31	p = 0,320
ХС-ЛПВП	1,24 ± 0,2	1,21 ± 0,18	p = 0,730	1,24 ± 0,21	1,28 ± 0,11	p = 0,490
ХС-ЛПНП	3,29 ± 0,62	3,37 ± 0,69	p = 0,918	3,29 ± 0,62	3,12 ± 0,60	p = 0,414
КА	2,97 ± 0,67	3,19 ± 0,79	p = 0,393	3,09 ± 0,76	3,19 ± 0,8	p = 0,345
Буряты						
Показатель	G/G	G/A + A/A	p	C/C	C/T	p
ОХ	3,45 ± 0,79	3,66 ± 0,51	p = 0,144	3,51 ± 0,69	3,83 ± 0,54	p = 0,349
ТГ	0,46 ± 0,15	0,46 ± 0,16	p = 0,613	0,48 ± 0,17	0,36 ± 0,03	p = 0,314
ХС-ЛПВП	1,11 ± 0,17	1,14 ± 0,15	p = 0,423	1,12 ± 0,16	1,13 ± 0,20	p = 0,650
ХС-ЛПНП	2,10 ± 0,60	2,33 ± 0,47	p = 0,117	2,16 ± 0,56	2,54 ± 0,53	p = 0,289
КА	2,09 ± 0,46	2,30 ± 0,47	p = 0,247	2,13 ± 0,43	2,63 ± 0,83	p = 0,611

Примечание. Концентрация показателей липидного профиля приведена в мм/л ± стандартное отклонение.

физма в популяциях Африки, за счет высокой доли аллеля (+83)T, где она достигает 40 % (p < 0,0001).

У каждого подростка в исследуемых группах были определены показатели липидограммы и проведен сравнительный анализ показателей липидограмм у носителей разных аллелей внутри каждой этнической выборки. Были сформированы 2 группы: первая включала подростков-носителей «диких» аллелей G(-75) и C(+83), вторая – носителей минорных аллелей (-75)A и (+83)T (табл. 4). По полиморфному локусу (+83)C>T носителей генотипа (+83)T/T обнаружено не было. В связи с малочисленностью носителей гомозиготного генотипа по минорным аллелям носители гомозиготных и гетерозиготных генотипов объединили в одну группу. Статистически значимых различий по показателям липидограммы между группами носителей разных аллелей внутри этнических выборок обнаружено не было.

Сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов (-75)G>A и (+83)C>T гена АРОА1 у представителей двух этнических групп Восточной Сибири не выявил различий. Также не выявлены различия показателей липидограммы у носителей разных генотипов гена АРОА1. Отсутствие взаимосвязи полиморфизмов (-75)G>A и (+83)C>T гена АРОА1 и показателей липидограммы у представителей изучаемых нами этнических групп Восточной Сибири позволяет предположить возможность наличия иных этнодифференцированных генетических маркеров [1, 2].

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-5646.2014.7.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Этногенетические маркеры антиоксидантной систе-

мы (обзор литературы) // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 166–171.

Kolesnikova LI, Bairova TA, Pervushina OA (2013). Ethnogenetic markers of antioxidant system (review of literature) [Jenogeneticheskie markery antioksidantnoj sistemy (obzor literatury)]. *Bjull. VSNC RAMN*, 4 (92), 166-171.

2. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Лабыхина А.В., Долгих М.И., Натяганова Л.В., Первушина О.А. Проблемы этноса в медицинских исследованиях (обзор литературы) // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 153–159.

Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebyonkina LA, Labygina AV, Dolgikh MI, Natyaganova LV, Pervushina OA (2013). Problems of ethnos in medical researches (review of literature) [Problemy etnosa v medicinskih issledovaniyah (obzor literatury)]. *Bjull. VSNC RAMN*, 4 (92), 153-159.

3. Творогова М.Г. Аполипопротеины – свойства, методы определения, клиническая значимость // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 29–37.

Tvorogova MG (2005). Apolipoproteins – properties, methods of determination, clinical significance [Apolipoproteiny – svoystva, metody opredeleniya, klinicheskaja znachimost']. *Laboratornaja medicina*, 7, 29-37.

4. Coban N, Onat A, Guclu-Geyik F, Evrim Komurcu-Bayrak E, Can G, Erginel-Unaltuna N (2014). Gender-specific associations of the APOA1 -75G>A polymorphism with several metabolic syndrome components in Turkish adults. *Clinica Acta.*, 431, 244-249.

5. Dawar R, Gurtoo A, Singh R (2010). Apolipoprotein A1 gene polymorphism (G-75A and C+83T) in patients with myocardial infarction. A pilot study in a North Indian population. *Am. J. Clin. Pathol.*, 134, 249-255.

6. De França E, Alves JGB, Hutz MH (2005). APOA1/C3/A4 gene cluster variability and lipid levels in Brazilian children. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 38, 535-541.

7. Fielding CJ, Fielding PE (1995). Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J. Lipid Research*, 36, 211-228.
8. GeneCards (2015), <http://www.genecards.org>.
9. Gomez P, Perez-Martinez P, Marin C, Camargo A, Yubero-Serrano EM (2010). APOA1 and APOA4 gene polymorphisms influence the effects of dietary fat on LDL particle size and oxidation in healthy young adults. *J. Nutr.*, 140, 773-778.
10. Hamrita B, Nasr HB, Gabbouj S, Chouchane L, Chahed K (2011). Apolipoprotein A1 -75G/A and +83C/T polymorphisms: susceptibility and prognostic implications in breast cancer. *Mol. Biol. Rep.*, 38, 1637-1643.
11. Heng CK, Low PS, Saha N (2001). Variations in the promoter region of the apolipoprotein A-1 gene influence plasma lipoprotein(a) levels in Asian Indian neonates from Singapore. *Pediatric Research*, 49 (4), 514-518.
12. Kamboh MI, Bunker CH, Aston CE, Nestlerode CS, McAllister AE, Ukoli FA (1999). Genetic association of five apolipoprotein polymorphisms with serum lipoprotein-lipid levels in African blacks. *Genetic Epidemiology*, 16, 205-222.
13. Padmaja N, Kumar MR, Adithan C (2009). Association of polymorphisms in apolipoprotein A1 and apolipoprotein B genes with lipid profile in Tamilian population. *Indian Heart J.*, 61 (1), 51-54.
14. Tu J, Zhang B, Chen Y, Liang B, Liang D, Liu G, He F (2013). Association of apolipoprotein A1 -75G/A polymorphism with susceptibility to the development of acute lung injury after cardiopulmonary bypass surgery. *Lipids in Health and Disease*, 12 (172), 1-5.
15. Villard EF, Khoury PE, Frisdal E, Bruckert E, Clement K (2013). Genetic determination of plasma cholesterol efflux capacity is gender-specific and independent of HDL-cholesterol levels. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 3, 822-828.
16. Vollbach H, Heun R, Morris CM, Vollbach H, Heun R, Morris CM, Edwardson JA, McKeith IJ, Jessen F (2005). APOA1 polymorphism influences risk for early-onset nonfamiliar AD. *Ann. Neurol.*, 58, 436-441.
17. Wang XL, Badenhop R, Humphrey KE, Wilcken DE (1996). New MspI polymorphism at +83bp of the human apolipoprotein AI gene: association with increased circulating high density lipoprotein cholesterol levels. *Genetic Epidemiology*, 1, 1-10.
18. Wang XL, Liu SX, McCredie RM, Wilcken DE (1996). Polymorphisms at the 5'-end of the apolipoprotein A-I gene and severity of coronary artery disease. *J. Clin. Invest.*, 98 (2), 372-377.

Сведения об авторах
Information about the authors

Колесников Сергей Иванович – академик Российской академии наук, советник Российской академии наук

Kolesnikov Sergej Ivanovich – Academician of Russian Academy of Sciences, Advisor of Russian Academy of Sciences

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории персонализированной медицины, заместитель директора по науке Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36)

Bairova Tatyana Ananjevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Personalized Medicine of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel.: +7 (3952) 20-76-36)

Калюжная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Kalyuzhnaya Olga Viktorovna – Junior Research Assistant of the Laboratory of Personalized Medicine of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Ершова Оксана Александровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Ershova Oksana Alexandrovna – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory of Personalized Medicine of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Darenskaya Marina Alexandrovna – Doctor of Biological Sciences, Leading Research Officer of the Laboratory of Pathophysiology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems