

О.В. Калюжная, Т.А. Байрова, 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 рискованным относительно частоты возникновения заболеваний [3, 6, 11].

Частота встречаемости в различных популяциях и этнических группах мира рискованного 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 рискованного 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 APOC3 проводили методом полимеразной цепной реакции с дальнейшим анализом длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДФ), используя коммерческие наборы производства (ООО «ГенЭксперт», Россия, Москва).

Праймеры используемые для постановки ПЦР имели следующие последовательности: прямой праймер: 5`-ААТААТААААТСАТААААСТСАТАГСАГСТТСТТГТ-3`, обратный праймер: 5`-ААТААТААААТСАТАААСТГССТАТССАТССТТС-3`. ПЦР проводили по программе, приведенной в инструкции к наборам, в автоматическом термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, Россия, Москва). Рестриктию 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  $\chi^2$  (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 APOC3. 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 APOC3 (rs5128) соответствовала равновесию Харди – Вайнберга ( $\chi^2 = 0,61$ ;  $p < 0,05$ ).

**Таблица 1**  
Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфного маркера S1/S2 гена APOC3 в исследуемой группе (n = 81)

Генотипы	n (%)
S1/S1	72 (88,9 %)
S1/S2	7 (8,6 %)
S2/S2	2 (2,5 %)
<b>Аллели</b>	<b>%</b>
S1	93,2
S2	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 APOC3 в популяциях мира

Популяция (численность выборки)	Доля аллеля S2 (%)	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 APOC3 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 рискованного 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 (APOC3) 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 apoAI-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 AI-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