

Ассоциации полиморфизма генов *ТОММ40* и *АРОЕ* с количественными фенотипами сердечно-сосудистой системы в популяции русских Сибирского региона

Салахов Р.Р.^{1*}, Макеева О.А.^{1,2}, Голубенко М.В.^{1,2}, Барбараш О.Л.¹, Пузырев В.П.²

¹ — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»
* salarr@kemcardio.ru

² — НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Томск

Актуальность: гены *ТОММ40* и *АРОЕ* расположены в одном локусе на хромосоме 19 (19p13). Анализ вклада полиморфизма этих генов в изменчивость клинически значимых показателей в популяции позволит оценить их роль в формировании заболеваний сердечно-сосудистой системы и их эндофенотипов. **Цель:** изучить полиморфизм восьми однонуклеотидных замен и поли-Т повтора в локусе *ТОММ40/АРОЕ* в выборке здоровых индивидов и выявить ассоциации полиморфных вариантов с количественными показателями деятельности сердечно-сосудистой системы. **Материалы и методы:** в двух выборках индивидов, здоровых в отношении сердечно-сосудистых заболеваний (г.Томска, N = 183 и г.Кемерово, N = 183), были изучены полиморфизмы rs741780, rs2075650, rs1160985, rs157580, rs8106922, rs10524523 (поли-Т повтор) в гене *ТОММ40* и *АРОЕ*: rs7259620, rs429358 и rs7412. Генотипирование проведено методами ПЦР в реальном времени и фрагментного анализа. Анализ ассоциаций с количественными признаками выполнен путем дисперсионного анализа и непараметрических критериев Манна–Уитни и Краскела–Уоллеса. **Результаты.** Получены оценки частот аллелей исследованных полиморфизмов у русского населения Западной Сибири, соответствующие характеристикам европеоидных популяций. Редкие аллели rs741780 и rs1160985 ассоциированы с более низкими уровнями триглицеридов ($p = 0,031$ и $p = 0,044$, соответственно); длинный аллель (L) поли-Т повтора rs10524523 ассоциирован с более высоким уровнем глюкозы ($p = 0,027$); rs7412 вносит вклад в изменчивость общего холестерина ($p = 0,002$) и липопротеидов низкой плотности ($p = 0,006$); rs2075650 ассоциирован с уровнями систолического артериального давления и липопротеидов низкой плотности в подгруппе мужчин ($p = 0,026$ и $p = 0,002$); генотип GG rs8106922 — с уровнем триглицеридов в подгруппе женщин ($p = 0,036$); rs429358 — с уровнем общего холестерина и липопротеидами низкой плотности ($p = 0,002$ и $p = 0,006$). **Выводы.** Полиморфизмы в локусе генов *ТОММ40/АРОЕ* вносят вклад в изменчивость показателей липидного спектра, уровня глюкозы и артериального давления крови у русского населения Западной Сибири.

Ключевые слова: популяция, сердечно-сосудистая система, липидный профиль, *ТОММ40*, *АРОЕ*

Associations of *ТОММ40* and *АРОЕ* genes polymorphisms with quantitative phenotypes of cardiovascular system in Russian population of the Siberia region

Salakhov R.R.^{1*}, Makeeva O.A.^{1,2}, Golubenko M.B.^{1,2}, Barbarash O.L.¹, Puzyrev V.P.²

¹ — Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases»
* salarr@kemcardio.ru

² — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMС, Tomsk, Russia

Relevance: *ТОММ40* and *АРОЕ* genes are located in the same locus on chromosome 19 (19p13). The analysis of a contribution of polymorphism in these genes to variability of clinically relevant quantitative traits in healthy individuals can evaluate their contribution to cardiovascular diseases. Purpose: to study 8 SNP polymorphisms and poly-T repeat in *ТОММ40/АРОЕ* locus in a sample of healthy individuals and to investigate associations of the polymorphisms with quantitative characteristics of cardiovascular system. **Materials and methods:** rs741780, rs2075650, rs1160985, rs157580, rs8106922, rs10524523 (poly-T repeat) in *ТОММ40* gene and *АРОЕ*: rs7259620, rs429358, rs7412 were studied in the sample of individuals without cardiovascular diseases (Tomsk, N = 183 and Kemerovo, N = 183). Genotyping was carried out with real-time PCR and the fragment analysis. The analysis of associations with quantitative traits was performed by ANOVA or Mann–Whitney and Kraskel–Wallace’s nonparametric criteria. **Results:** In respect of allele frequencies Russian population of West Siberia is close to other Caucasian populations. Rare alleles of rs741780 and rs1160985 were associated with lower levels of triglycerides ($p = 0,031$ and $p = 0,044$, respectively); a long allele (L) of the poly-T repeat (rs10524523) was associated with higher glucose level ($p = 0,027$); rs7412 contributes to the variability of the total cholesterol level ($p = 0,02$) and low-density lipoprotein cholesterol ($p = 0,06$); rs2075650 was associated with systolic blood pressure and low-density lipoprotein cholesterol in males ($p = 0,026$ and $p = 0,002$); GG genotype of the rs8106922 was associated with triglycerides in females ($p = 0,036$); rs429358 was associated with the total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol ($p = 0,002$ and $p = 0,006$). **Conclusions:** Polymorphisms in *ТОММ40/АРОЕ* locus contribute to the variability of lipid parameters, glucose level, and arterial blood pressure in Russian inhabitants of Western Siberia.

Keywords: population, cardiovascular system, lipid profile, *ТОММ40*, *АРОЕ*

Введение

Сывороточные концентрации липидов, артериальное давление, уровень глюкозы в крови, индекс массы тела — это факторы, которые влияют на риск сердечно-сосудистых заболеваний. Полногеномные ассоциативные исследования позволили выявить новые гены, ранее не рассматриваемые в качестве кандидатных [1–4]. Одним из таких локусов является ген субъединицы транслоказы внешней мембраны митохондрий (*ТОММ40*), расположенный в непосредственной близости от кластера генов аполиipoproteинов, в частности, *АРОЕ*.

В данном исследовании мы изучили популяционный полиморфизм 8 SNP в генах *ТОММ40* и *АРОЕ*, а также полиморфизм политиминового повтора в 6 интроне *ТОММ40*, и оценили вклад локуса генов *ТОММ40/АРОЕ* в вариабельность как липидов сыворотки крови, так и других количественных показателей, связанных с функцией сердечно-сосудистой системы.

Материалы и методы

В исследование были включены жители г. Кемерово (N = 183) и г. Томска (N = 183), не имеющие диагностированных сердечно-сосудистых заболеваний, 34,2% мужчин, средний возраст составил 47 лет. У участников исследования были измерены показатели липидного спектра: общий холестерин (ОХ), холестерин в составе липопротеидов низкой и высокой плотности (ЛПНП и ЛПВП), триглицериды (ТГ); уровень глюкозы; значения систолического и диастолического давления (САД и ДАД), а также рассчитан индекс массы тела (ИМТ).

Выделение ДНК проводили фенол-хлороформным методом. Генотипирование осуществляли методом ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan-проб.

Генотипирование политиминового повтора в интроне 6 *ТОММ40* проводили путем фрагментного анализа на приборе 3500 Genetic Analyzer.

Соответствие частот генотипов ожидаемому при равновесии Харди—Вайнберга, а также сравнения частот аллелей между выборками г. Томска и г. Кемерово оценивали по критерию χ^2 . Проверку распределений на нормальность проводили с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Для анализа ассоциаций аллелей и генотипов с количественными признаками использовали однофакторный дисперсионный анализ или непараметрические критерии Манна—Уитни и Краскела—Уоллиса, в программе Statistica 10.

Результаты и обсуждение

Для всех изученных полиморфных вариантов локуса генов *ТОММ40/АРОЕ* наблюдалось соответствие распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди—Вайнберга (табл. 1). Различий по частотам аллелей и генотипов между выборками г. Томска и г. Кемерово не выявлено; оценки частот аллелей соответствовали таковым для европейских популяций [5].

Полиморфизм политиминового повтора гена *ТОММ40* (rs10524523) для популяции русских был изучен впервые. Выявленные аллели были разделены на три подгруппы в зависимости от длины повтора: S — короткие (Short) — до 19 нуклеотидов, L — длинные (Long) — от 20 до 29, VL — очень длинные (Very Long) — от 30 нуклеотидов [6]. Частота генотипа S/S составила 21,84%, S/L — 11,21%, S/VL — 36,21%, L/L — 2,30%, L/VL — 9,77%, VL/VL — 18,68%. Для анализа ассоциаций генотипы данного локуса были преобразованы в зависимости от носительства того или иного аллеля в биаллельные генотипы, например: S/S — гомозигота по аллелю S; S/X — гетерозиготы по аллелю S, объеди-

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов в локусе генов *ТОММ40/АРОЕ*

Ген	Полиморфизм	Частота редкого аллеля, (%)	Частота гомозигот по референсному аллелю	Частота гетерозигот	Частота гомозигот по вариантному аллелю	χ^2 , d.f. = 1	p
<i>ТОММ40</i>	rs1160985	T (45,88)	23,08% (ТТ)	45,60% (СТ)	31,32% (СС)	2,428	>0,05
	rs157580	G (32,68)	46,37% (АА)	41,90% (АG)	11,73% (GG)	0,817	>0,05
	rs2075650	G (20,06)	64,07% (АА)	31,75% (АG)	4,18% (GG)	0,034	>0,05
	rs741780	C (45,40)	23,12% (CC)	44,57% (CT)	32,31% (TT)	3,665	>0,05
	rs8106922	G (40,30)	37,12% (АА)	45,15% (АG)	17,73% (GG)	1,373	>0,05
<i>АРОЕ</i>	rs7259620	A (45,48)	22,88% (АА)	45,20% (АG)	31,92% (GG)	2,779	>0,05
	rs429358	C (12,98)	02,21% (CC)	21,55% (CT)	76,24% (TT)	0,779	>0,05
	rs7412	T (7,04)	86,74% (CC)	12,43% (CT)	0,83% (TT)	0,934	>0,05

Примечание. χ^2 рассчитан для оценки соответствия равновесию Харди—Вайнберга; d.f. — число степеней свободы; p — уровень значимости.

Ассоциации полиморфизма *ТОММ40* и *АРОЕ* с количественными признаками

Группа	SNP	Признак	Генотип (n)			p
			CC	CT	TT	
Общая	rs741780	ТГ, ммоль/л	CC (70)	CT (114)	TT (94)	0,031
			1,33 ± 0,70	1,75 ± 1,38	1,52 ± 0,81	
	rs1160985	ТГ, ммоль/л	TT(69)	CT (118)	CC (90)	0,044
			1,33 ± 0,71	1,73 ± 1,36	1,53 ± 0,82	
	rs7412	ОХ, ммоль/л	CC (295)	CT+TT (48)		0,001
			5,99 ± 1,39	5,30 ± 1,25		
		ЛПНП, ммоль/л	CC (225)	CT+TT (38)		0,008
			4,07 ± 1,23	3,51 ± 0,97		
	rs10524523	Глюкоза, ммоль/л	XX (61)	LL+LX (17)		0,027
			5,35 ± 0,77	6,27 ± 3,09		
Мужчины	rs2075650	САД, мм рт. ст.	AA (76)	GA+GG (45)		0,049
			125,24 ± 13,96	130,76 ± 16,07		
		ЛПНП, ммоль/л	AA (57)	GA ± GG (31)		0,002
			3,86 ± 0,98	4,55 ± 0,97		
	rs429358	ОХ, ммоль/л	TT (93)	CC+CT (27)		0,013
			5,55 ± 1,20	6,21 ± 1,25		
		ЛПНП, ммоль/л	TT (69)	CC+CT (22)		0,014
			3,97 ± 0,97	4,57 ± 1,03		
	rs10524523	САД, мм рт. ст.	XX(90)	LX+LL (27)		0,009
			125,43 ± 14,19	134,09 ± 16,87		
Женщины	rs8106922	ТГ, ммоль/л	AA (67)	GA (74)	GG (38)	0,036
			1,60 ± 0,93	2,00 ± 1,58	1,44 ± 0,62	
	rs7412	ОХ, ммоль/л	CC (199)	CT+TT (24)		0,002
			6,09 ± 1,48	5,14 ± 0,94		
		ЛПНП, ммоль/л	CC (152)	CT+TT (20)		0,006
			4,02 ± 1,32	3,18 ± 0,90		

Примечание. n — объем выборки; p — уровень значимости

няющие генотипы S/L и S/VL; X/X — генотипы без аллеля S (L/L, L/VL и VL/VL). Аналогичным образом преобразование было выполнено и при анализе других аллелей.

Анализ ассоциаций проводили как в общей выборке, так и отдельно для мужчин и женщин. Статистически значимые ассоциации приведены в табл. 2. В гене *АРОЕ* rs429358 (ε4) был ассоциирован с повышением уровня ОХ и ЛПНП, а rs7412 (ε2) — с их снижением. Для полиморфизма *ТОММ40*, кроме уровня ЛПНП, получены ассоциации с уровнем ТГ, САД и уровнем глюкозы. Аллель С rs741780, аллель С rs1160985 и аллель G rs8106922 проявили «положительный» эффект, а аллель G rs2075650 и аллель L rs10524523 являются неблагоприятными в отношении ассоциированных с ними признаков (табл. 2).

Вклад некоторых исследованных SNP в изменчивость уровня сывороточных липидных фракций был

описан ранее. Так, rs2075650 был ассоциирован с уровнем ЛПНП у больных с поражением каротидных артерий [7] и в ряде полногеномных исследований [2–4]. Роль полиморфизма гена *АРОЕ* в изменчивости уровня липидов также известна [8]. Ассоциации полиморфизма *ТОММ40* с ОХ, ТГ, САД, уровнем глюкозы получены нами впервые.

Выводы

Популяция русских Западной Сибири по характеристикам полиморфизма в локусе генов *ТОММ40/АРОЕ* не отличается от европейских популяций. Показан вклад исследованного полиморфизма в популяционную изменчивость показателей липидного спектра, уровня глюкозы и артериального давления крови.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Список литературы

1. Пузырёв ВП. Вопросы вокруг идентифицируемых генов подверженности распространенным болезням человека. Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. 2009;13:3-16.
2. Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I et al. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat Genet.* 2009;41:47–55.
3. Middelberg RP, Ferreira MA, Henders AK et al. Genetic variants in *LPL*, *OASL* and *TOMM40/APOE—C1—C2—C4* genes are associated with multiple cardiovascular-related traits. *BMC Med Genet.* 2011;12:123.
4. Talmud PJ, Drenos F, Shah S et al. Gene-centric Association signals for lipids and apolipoproteins identified via the HumanCVD BeadChip. *Am J Hum Genet.* 2009;85:628–642.
5. The 1000 Genomes Project Consortium. A global reference for human genetic variation. *Nature*;526:68–74.
6. Roses AD, Lutz MW, Amrine-Madsen H, et al. A *TOMM40* variable-length polymorphism predicts the age of late-onset Alzheimer's disease. *Pharmacogenomics Journal.* 2010;10(5):375–384.
7. Ronald J, Rajagopalan R, Ranchalis JE et al. Analysis of recently identified dyslipidemia alleles reveals two loci that contribute to risk for carotid artery disease. *Lipids. Health. Dis.* 2009;8:52.
8. Mazzotti DR, Singulane CC, Ota VK et al. Association of *APOE*, *GCP11* and *MMP9* polymorphisms with common diseases and lipid levels in an older adult/elderly cohort. *Gene.* 2014;535(2):370-375.