

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА RS4131229 ГЕНА ABCG5 С БИОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ БОЛЬНЫХ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Сагдатова А.А.¹, Нургалиева А.Х.², Загидуллин Ш.З.¹, Хуснутдинова Э.К.^{2,3}

¹ГБОУ ВПО «Башкирский Государственный Медицинский Университет Минздрава РФ», г. Уфа, Россия (450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3), aliyasg@rambler.ru

²ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32, e-mail: Alfiyakh83@gmail.com

³ ФГБУН «Институт Биохимии и Генетики, Уфимский Научный Центр РАН», 450054, г.Уфа, Проспект Октября, 71

В статье представлены результаты анализа связи полиморфного варианта гена ABCG5 (rs4131229) с нарушениями биохимических показателей у больных с желчнокаменной болезнью и практически здоровых лиц. 180 пациента с диагнозом желчнокаменная болезнь были разделены на 2 группы: 1-я группа — больные с хроническим калькулезным холециститом (105 пациентов), 2-я группа – больные с острым калькулезным холециститом (75 пациентов). Проведено исследование ассоциации полиморфных локусов rs4131229 гена ABCG5 с биохимическими показателями сыворотки крови больных холелитиазом. Выявлено, что хронический калькулезный холецистит у носителей генотипа TC гена ABCG5 протекает с высоким уровнем АСТ, а острый калькулезный холецистит у индивидов с полиморфным вариантом гена ABCG характеризуется высокими показателями общего холестерина, общего билирубина, АЛТ и АСТ сыворотки крови.

Ключевые слова: хронический калькулезный холецистит, полиморфизм гена ABCG5, АЛТ, АСТ, общий холестерин, общий билирубин

COMMUNICATION OF POLYMORPHIC VARIANTS RS4131229 GENE ABCG5 WITH BIOCHEMICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHOLELITHIASIS

Sagatova A.A.¹, Nurgaliyeva A.C.², Zagidullin S.Z.¹, Khusnutdinova E.K.^{2,3}

¹ GBOU VPO «Bashkir State Medical University» Russian Ministry of Health, Ufa city, Russia, 450000, Ufa, Lenina str., 3 e-mail: aliyasg@rambler.ru

²VPO "Bashkir State University", 450076, Ufa, Zaki Validi str., 32, e-mail: Alfiyakh83@gmail.com

³ FGBUN "Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences", 450054, Ufa, Prospekt Oktyabrya, 71

The article presents the results of the analysis due polymorphic variant gene ABCG5 (rs4131229) with violations of biochemical parameters in patients with gallstone disease and healthy donors. 180 patients with a diagnosis of gallstone disease were divided into 2 groups: group 1 - patients with chronic calculous cholecystitis (105 patients), group 2 – patients with acute calculous cholecystitis (75 patients). A study of the association of polymorphic loci rs4131229 gene ABCG5 with biochemical parameters of blood serum of patients with cholelithiasis. Revealed that chronic calculous cholecystitis in genotype TC ABCG5 gene was characterized by high levels of AST and acute calculous cholecystitis in individuals with polymorphic variant of a gene ABCG characterized by high levels of total cholesterol, total bilirubin, ALT and AST serum

Keywords: cholelithiasis, gene polymorphism of ABCG5, ALT, AST, total cholesterol, total bilirubin

Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) — широко распространенное заболевание во всем мире. В структуре заболеваний билиарного тракта данная патология занимает значительное место. Клинически ЖКБ может протекать в виде хронического и острого калькулезного холецистита (ХКХ и ОКХ). Одной из причин возникновения холестериновых желчных камней являются нарушения липидного обмена [8]. С конца 1980-х гг. проводились исследования для выявления ассоциации генов-кандидатов с желчнокаменной болезнью.

ЖКБ является многофакторным заболеванием, при этом в гомеостазе холестерина – основного компонента конкрементов — участвует большое количество генов [6].

Цель исследования

Изучение ассоциации полиморфного варианта АТФ-связанного кассетного (АВС) трансмембранного белка — транспортера холестерина *ABCG5* (*rs4131229*) — с биохимическими показателями у больных с желчнокаменной болезнью.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК больных желчнокаменной болезнью в стадии обострения и здоровых доноров в возрасте от 23 до 80 лет, проживающих в г. Уфа. Группа больных, наблюдавшихся в гастроэнтерологическом и хирургическом отделениях ГБУЗ РБ ГКБ № 21 г. Уфа Республики Башкортостан, составила 180 индивидов, из которых 105 имели диагноз «хронический калькулезный холецистит» – ХКХ (1-я группа), 75 – «острый калькулезный холецистит» – ОКХ (2-я группа), у которых проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта АТФ-связанного кассетного (АВС) трансмембранного белка — транспортера холестерина *ABCG5* (*rs4131229*). Диагностику ЖКБ проводили на основании данных общеклинического обследования, ультразвукового исследования желчного пузыря. В качестве контроля исследована группа здоровых лиц без каких-либо признаков заболеваний желудочно-кишечного тракта, а также сердечно-сосудистой патологии, обусловленной атеросклерозом, состоящая из 167 человек. Распределение по половому признаку среди больных было следующим: мужчин – 35, женщин – 145, среди индивидов контрольной группы: мужчин – 33, женщин – 134.

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [5]. Амплификацию исследованных локусов ДНК проводили с помощью полимеразной цепной реакции синтеза ДНК на амплификаторе «GeneAmp PCR System 2720» производства компании «Applied Biosystems» (США). Определение нуклеотидных замен проводили методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ). Перечень исследованных локусов, последовательности праймеров, размеры амплифицируемых фрагментов, названия рестриктаз представлены в таблице 1.

Таблица 1

Полиморфные варианты, последовательность праймеров, номенклатура аллелей анализируемого ДНК-локуса

| | | | |
|--------------|----------------------------------|---|--|
| Ген | Полиморфный вариант, dbSNP | Праймеры, 5' – 3' (ссылка) | Рестриктаза, аллели (размер фрагментов п.н.) |
| <i>ABCG5</i> | <i>i7892 T>C</i> rs4131229 | ACTTCTGTCTGTGGCTTGCATT GAAAGAGATTGGAACCTAGAAG (Li Q., et al., 2012) | <i>Hha I</i> T – 203 C – 126+77 |

Результаты оценивали методом электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете. Статистическую обработку результатов исследования проводили с применением программного обеспечения MS Office Excel. Оценка различий между двумя исследуемыми выборками проводилась по критерию Стьюдента и U-критерию Манна—Уитни. Все пациенты предварительно дали письменное согласие на участие в проводимом исследовании.

Результаты и обсуждение

У больных ЖКБ и лиц контрольной группы проведено изучение связи полиморфного варианта АТФ-связанного кассетного (ABC) трансмембранного белка — транспортера холестерина *ABCG5* (*rs4131229*) с биохимическими показателями у больных желчнокаменной болезнью и здоровых доноров.

Результаты анализа ассоциации исследуемого полиморфного варианта rs4131229 гена *ABCG5* с биохимическими показателями крови ($M \pm m$) больных ЖКБ по сравнению с контрольной группой представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты анализа связи исследуемого полиморфного варианта rs4131229 гена *ABCG5* с биохимическими показателями крови ($M \pm m$) больных ЖКБ по сравнению с контрольной группой

| Больные | Генотип | Показатели липидов крови ($M \pm m$) (ммоль/л) | | | | N |
|---------------|--------------|--|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----|
| | | Общий холестерин | АЛТ | АСТ | Общий билирубин | |
| Больные с ЖКБ | ТС (n=42) | 5,64±0,29 P=0 | 50,86±12,38 P=0,005 t=2,903 | 48,9±12,17* P=0,017 t=2,435 | 16,61±2,61* P=0,04 t=2,091 | 105 |
| | СС (n=21) | 5,93±0,22 P=0 | 24,84±2,67 P=0 | 24,81±2,24 P=0,164 t=1,445 | 17,46±1,39* P=0,006 t=2,904 | |
| | ТТ | 5,25±0,21 | 28,68±4,75* | 26,39±3,97 | 14,23±0,74* | |

| | | | | | | |
|--------------------|--------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----|
| | (n=42) | P=0 | P=0,004 t=2,807 | P=0,058 t=1,925 | P=0,005 t=2,858 | |
| Больные с ОКХ | ТС (n=38) | 5,29±0,19 P=0 | 135,2±31,6 P=0 | 103,4±24,71 P=0 | 29,27±5,36* P=0,002 t=3,235 | 75 |
| | СС (n=17) | 5,39±0,25* P=0,001 | 70,88±25,97* P=0,007 | 66,47±18,99 P=0 | 34,49±6,88 P=0 | |
| | ТТ (n=20) | 5,83±0,28 P=0 | 98,8±29,39* P=0,008 t=2,795 | 88,65±28,39* P=0,026 t=2,316 | 63,75±27,44 P=0,067 | |
| Контрольная группа | СТ (n=73) | 4,33±0,11 | 15,1±1,17 | 19,29±1,49 | 11,37±0,67 | 167 |
| | СС (n=25) | 4,87±0,03 | 11,1±1,03 | 20,05±2,39 | 11,99±1,27 | |
| | ТТ (n=69) | 4,33±0,11 | 15,1±1,17 | 19,29±1,49 | 11,37±0,67 | |

Примечание: n – численности групп; N – объем выборки, * — по сравнению с контролем $p < 0,05$.

При сравнении групп больных и контроля обнаружено, что носители генотипа ТС полиморфного варианта rs4131229 гена *ABCG5* с ХКХ имели статистически значимый высокий уровень фермента аспаратаминотрансферазы (АСТ), у пациентов с гомозиготным генотипом ТТ гена *ABCG5* заболевание протекало с нормальным уровнем аланинаминотрансферазы (АЛТ). Уровень общего билирубина статистически значимо не был отклонен от референтных значений у носителей всех генотипов полиморфного варианта rs4131229 гена *ABCG5* с хроническим калькулезным холециститом по сравнению с контролем.

Выявлено, что носители генотипа ТС полиморфного варианта rs4131229 гена *ABCG5* с острым калькулезным холециститом имели статистически значимый высокий уровень общего билирубина по сравнению с контролем. У пациентов с ОКХ и гомозиготным СС генотипом наблюдался достоверно выше референтных значений показатель общего холестерина и АЛТ в сыворотке крови. У индивидов с генотипом ТТ определялся статистически значимый цитолитический синдром: уровни АЛТ и АСТ были повышены в несколько раз.

Путь транспорта холестерина включает захват холестерина липопротеина высокой плотности (ХС ЛПВП) печенью и его выведение с желчью. Мембранные белки-транспортеры *ABCG5* и *ABCG8*, находящиеся в печени, кишечнике [4,2] и эпителиальных клетках желчного пузыря [7], регулируют транспорт липидов на различных уровнях, препятствуют избыточному захвату холестерина в энтероцитах, участвуют в катаболизме холестерина и способствуют его транспорту в желчь. Генетически обусловленный дефицит этих транспортеров является причиной ситостеролемии, т.е. низкой скорости выведения стеролов с желчью и накопления в крови и тканях холестерина и растительных стеролов [1].

Li Q. et al. (2012), проводя исследования в популяции китайцев, показали, что мужчины, носители аллеля *rs4131229*T* гена *ABCG5*, характеризуются снижением концентрации общего холестерина, холестерина ЛПВП, триглицеридов и отношения АроА1/АроВ [3].

Выводы

1. Хронический калькулезный холецистит у носителей генотипа ТС полиморфного варианта *rs4131229* гена *ABCG5* протекал с высоким уровнем АСТ и не превышающим норму общим билирубином, а у больных с гомозиготным генотипом ТТ гена *ABCG5* ХКХ характеризовался нормальными значениями АЛТ и общим билирубином. У носителей гомозиготного генотипа СС гена *ABCG5* ХКХ также протекал с нормальными показателями общего билирубина.
2. У индивидов с гетерозиготным генотипом ТС полиморфного варианта *rs4131229* гена *ABCG5* острый калькулезный холецистит, в отличие от ХКХ, протекал с повышенным уровнем общего билирубина. При гомозиготном СС варианте больные с ОКХ, в отличие от пациентов с ХКХ, имели повышенные показатели общего холестерина и АЛТ. У носителей ТТ генотипа гена *ABCG5* с ОКХ, как и в 1-й группе, зарегистрирован высокий уровень АЛТ и АСТ в сыворотке крови.

Список литературы

1. Berge K. E. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. / Berge K.E., Tian H., Graf G.A. [et al.] // Science. — 2000. — Vol. 290. — P. 1771–1775.
2. Klett E.L. Localization of ABCG5 and ABCG8 proteins in human liver, gallbladder and intestine / Klett E.L., Lee M.H., Adams D.B. [et al.] // BMC Gastroenterol. — 2004; 4:21.
3. Li Q. ATP-Binding Cassette Transporter G5 and G8 Polymorphisms and Several Environmental Factors with Serum Lipid Levels / Li Q., Yin R.-X., Wei X.-L. [et al.] // Plos one. — 2012. — Vol. 7, Issue 5. — P. 372–379.
4. Lu K. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolic2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively / Lu K., Lee M.H., Hazard S. [et al.] // Am. J. Hum. Genet. — 2001, 69. — P. 278–290
5. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // Methods molecular biology. N.Y. — 1984. — Vol. 2. — P. 31–34.
6. Stinton L.M. Epidemiology of Gallbladder Disease: Cholelithiasis and Cancer / Stinton L.M., Shaffer E.A. // Gut and Liver. — 2012. — Vol. 6, No. 2. — P. 172–187.

7. Tauscher A. ABCG5 and ABCG8 are expressed in gallbladder epithelial cells / Tauscher A., Kuver R. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003, 307. — P. 1021–1029.
8. Yoo E.-H. The prevalence and risk factors for gallstone disease / Yoo E.-H., Lee S.-Y. // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2009. — Vol. 47, № 7. — P. 795–807.

Рецензенты:

Зулкарнеев Р.Х., д.м.н., профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа;

Загидуллин Н.Ш., д.м.н., профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа.