Гуурсан хоолойн багтраатай хүмүүст *MBL2* генийн *rs11003125* полиморфизм, МХЛ уургийн түвшин хоорондын хамаарлыг тодорхойлсон дүн

Ч.Алтаншагай[1,4], Б.Гантулга[2], Б.Энхбаяр[3], С.Мөнхбаярлах[5], Т.Буянхүү[4], Л.Наранцэцэг[4]

[1]Геронтологийн үндэсний төв
[2]Агапе эмнэлэг
[3]Ач АУИС"Эффект" харшил, астмын эмнэлэг
[4]АШУҮИС, Био-Анагаахын Сургууль, Биохимийн тэнхим
[5]АШУҮИС, АУС
Цахим хаяг: Altanshagai.mnums@gmail.com, Утас:89555961

Түлхүүр үг:
Генотип
Аллель
МХЛ уураг
rs11003125
полиморфизм

Товч утга: Дэлхийн астмын удирдлагын төв (GINA) дотоод, гадаад шалтгааны улмаас гуурсан хоолойн мэдрэг чанар өөрчлөгдөн, хэт мэдрэгшлийн хариу урвалын дүнд үүсэх амьсгалын замын архаг үрэвслийг гуурсан хоолойн багтраа гэж тодорхойлсон.1 Харьцангуй эрүүл болон гуурсан хоолойн багтраатай хүмүүст MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын генотип, аллелийг ийлдсийн МХЛ уургийн түвшинг харьцуулан судлахад MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын генотип GG (261 х.н), GC (261+239+22 х.н) CC (239+22 х.н) урттай, MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын эрсдэлт генотип GC-CC харьцангуй эрүүл хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад гуурсан хоолойн багтраатай тохиолдлын бүлэгт 9.8% их, эрсдэлт аллель C 5.6% их, тохиолдол-хяналтын бүлгийн GG, GC, CC генотиптэй хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн дундажийг тодорхойлон, ялгаатай байдлыг үнэлэхэд ач холбогдлын 0.05 түвшинд GG, GC генотиптэй хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн хэмжээ ач холбогдол бүхий ($p \leq 0.0001$) ялгаатай тодорхойлогдсон.

Үндэслэл: Дэлхийн астмын удирдлагын төв (GINA) дотоод, гадаад шалтгааны улмаас гуурсан хоолойн мэдрэг чанар өөрчлөгдөн, хэт мэдрэгшлийн хариу урвалын дүнд үүсэх амьсгалын замын архаг үрэвслийг гуурсан хоолойн багтраа гэж тодорхойлсон.[1] ДЭМБ-ын 2020 оны статистик тоо мэдээллээр дэлхий дээр 339 сая гаруй хүн гуурсан хоолойн багтраагаар өвчилж, жилд 417918 хүн нас барьж, 24.8 сая хүн хөдөлмөрийн чадвараа алдаж, нас баралтын ихэнхи хувь нь бага болон дунд түвшнээс доогуур орлоготой орнуудад тохиолдож,[2,3] эмчилгээнд зарцуулж буй зардал нь хөдөлмөрийн чадвар алдагдалд зарцуулж буй зардлын нэг хувийг, чихрийн шижин, элэгний хатуурал, шизофрени өвчинд зарцуулж буй зардалтай ижил байна.[4,5] Монгол-Япон судлаачдын хамтарсан (2010) хүн амд суурилсан амьсгалын замын архаг өвчний тархвар зүйн судалгаагаар УБ хотын насанд хүрэгчдийн дунд гуурсан хоолойн багтраа өвчний тархалт 4.8%, 10 жилийн дараа 2 дахин, цаашид улам нэмэгдэх хандлагатай байна.[6]

Гуурсан хоолойн багтраа өвчний генетикийн локус (хромосом 11q13)-ын судалгаа анх 1989 онд нийтлэгдсэнээс хойш гуурсан хоолойн багтраа, хамааралт фенотип IgE түвшин, хэт мэдрэгшлийн хариу урвал, эозинофилтэй холбоотой 600 гаруй генийн 1000 гаруй өгүүлэл нийтлэгдсэн байна.[7]

Сүүлийн жилүүдэд ялангуяа төрөлхийн дархлаа тогтолцоотой холбоо бүхий генүүд, уушигны өвчин хоорондын хамаарлыг эрчимтэй судалж байна.[8]

Сүүлйин жилүүдэд төрөлхийн дархлаа тогтолцооны чухал эффектор молекулуудын нэг манноз холбогч лектин (МХЛ) уураг болон гуурсан

хоолойн багтраа өвчний хамааралын талаар нилээдгүй судалгааны ажил хийгдэж байна. Манноз холбогч лектин (МХЛ) уураг нь 32 кДа молекул жинтэй, 10-р хромосомын 10q11.2-q21 байрлах MBL2 генд кодлогддог. МХЛ уураг нь эмгэгтөрөгч, аллерген, апоптозод орсон эсийн гадаргуу дээрх нүүрсустөрөгчтэй коллаген төст хэсгээрээ холбогдон хавсаргын тогтолцоог лектины замаар идэвхжүүлэн, опсинофагоцитоз, үрэвсэл, апоптозын урвалын зохицуулгад оролцдог.[9] МХЛ уургийг кодлогч MBL2 генийн нэг нуклеотидын полиморфизм нь халдвар, харшил, аутоиммун өвчний эмгэг жамын урьтал генетикийн хүчин зүйл болох талаар судлаачид онцлон тэмдэглэсээр байна.[10,11]

Зорилго: Харьцангуй эрүүл болон гуурсан хоолойн багтраатай хүмүүст MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын генотип, аллелийг ийлдсийн МХЛ уургийн түвшинтэй харьцуулан судлах

Зорилт:

1. Харьцангуй эрүүл болон гуурсан хоолойн багтраатай хүмүүст MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмыг тодорхойлох
2. Харьцангуй эрүүл болон гуурсан хоолойн багтраатай хүмүүст rs11003125 полиморфизмын эрсдэлт аллель болон генотипүүдийг тодорхойлон харьцуулах
3. Харьцангуй эрүүл болон гуурсан хоолойн багтраатай хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн түвшинг MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын генотипүүдтэй харьцуулан судлах

Материал, арга зүй: Судалгаанд гуурсан хоолойн багтраа эмгэгтэй 71 хүн, харьцангуй эрүүл 71 хүн хамруулан аналитик судалгааны тохиолдол-хяналтын загвараархийжгүйцэтгэсэн.АШУҮИС-ийнСудалгааны Ёс Зүйн Хяналтын хорооны (2020.06.12, №2020/3-05) зөвшөөрөлтэйгээр судалгаанд оролцогчдоос өлөн үед захын венийн судаснаас цус авч, МХЛ уургийн хэмжээг Хүний МХЛ цомог (Human Mannose Binding Lectin ELISA kit, Gen Way Biotech Inc™, San Diego CA, USA)-ийн протоколын дагуу Фермент Холбоот Эсрэгбиеийн Урвал (ФХЭБУ)-аар тодорхойлсон. ДНХ ялгахдаа Тайвань улсын “Genaid Biotech” компанийн “gSYNC™ Total DNA Extraction Kit” (cat.No.GS300) цомгийг ашиглан дагалдах протоколын дагуу ДНХ-ийг ялгасан. ПГУ-ыг явуулахдаа“ Tsingke” компанийн “Green PCR PreMix” (TSE101) цомгийг ашиглан MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмд өвөрмөц праймер ашиглан тодорхойлсон (Хүснэгт 1, 2). ПГУ-ын бүтээгдэхүүнээ AccI энзимээр зүсэж, 3% агарозын гель-электроферозд гүйлгэн, этидиумбромидаар будаж гелийн зургийг авч дүгнэсэн.

Хүснэгт 1. Праймерын дараалал

Праймер	Праймерын дараалал	Хэмжээ
H/L (F)	5’ GGGGCTAGGCTGCTGAGGTTTC 3’	261 х.н
H/L (R)	5’ TTGCTTCCCCTTGGTGTTGTA 3’	

Хүснэгт 2. ПГУ-ын нөхцөл

ПГУмөчлөг		Темпертур	Хугацаа
Гинж салах шат		94 градус	10мин
40 мөчлөг	Гинж салах шат	94 градус	20сек
	Праймер холбогдох шат	61градус	30сек
	Уртсах шат	72градус	30сек
Эцсийн уртсах шат		72градус	5мин

Үр дүн: Судалгаанд 1:1 харьцаагаар нийт 142 хүн хамрагдсанаас 71 хүн харшлын арьс хатгах сорилоор эерэг гарсан гуурсан хоолойн багтраатай, 71 хүн харьцангуй эрүүл хүмүүс байв. Тохиолдлын бүлгийн 71 хүний 39.4% (28) эрэгтэй, 60.6%(43) эмэгтэй, хяналтын бүлгийн 71 хүний 57.7% (41) эрэгтэй, 42.2% (30) эмэгтэй байлаа (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3. Судалгааны бүлгийн нас, хүйсийн харьцаа

	Тохиолдлын бүлэг (n=71) (%)	Хяналтын бүлэг (n=71) (%)	p-value
Нас			
Дундаж ±SD	31.1±8.8	36.9±10.9	0.01
Хүйс:			
Эрэгтэй	28 (39.4%)	41 (57.7%)	0.02
Эмэгтэй	43 (60.6%)	30 (42.2%)	

Тайлбар: p≥0.05 статистик ач холбогдолтой.

MBL2 генийн промотор хэсгийн -550 байрлах rs11003125 полиморфизмын ПГУ-аар олшруулсан бүтээгдэхүүнийг AccI зүсэгч энзимээр зүсэхэд GG (261 х.н), GC (261+239+22 х.н), CC (239+22 х.н) урттай хэрчим үүсгэж, тохиолдлын бүлэгт генотипийн давтамж 63.4%(45) GG, 33.8% (24) GC, 2.8% (2) CC, GC-CC 36.6% (26), хяналтын бүлэгт 73.2% (52) GG, 25.4% (18) GC, 1.4% (1) CC, GC-CC 26.8% (19)-тай илэрсэн (Хүснэгт 4).

Хүснэгт 4. MBL2 генийн rs1800450 полиморфизмын генотипийн тархалт

Генотип	Тохиолдлын бүлэг (n=71) (%)	Хяналтын бүлэг (n=71) (%)	(95% CI)	P утга
MBL -550: Генотип				
Wild (GG)	45 (63.4%)	52 (73.2%)	2	0.2
Hetero (GC)	24 (33.8%)	18 (25.4%)	2	0.3
Mutant (CC)	2 (2.8%)	1 (1.4%)	1	1
GC-CC	26 (36.6%)	19 (26.8%)	1	0.2

Тайлбар: p≥0.05 статистик ач холбогдолтой.

Тохиолдлын бүлэгт G аллель 80.3%, C аллель 19.7%, хяналтын бүлэгт G аллель 85.9%, C аллель 14.1% давтамжтай илэрч, эрсдэлт C аллель тохиолдлын бүлэгт 5.6% их байна (Хүснэгт 5).

Хүснэгт 5. Тохиолдол-хяналтын бүлэгт илрэх аллелийн тархалт

Полиморфизм	Аллель	Тохиолдлын бүлэг	Хяналтын бүлэг	p-утга
rs11003125	G	114 (80.3%)	122 (85.9%)	0.2
	C	28 (19.7%)	20 (14.1%)	

Тайлбар: p≥0.05 статистик ач холбогдолтой

Тохиолдол хяналтын бүлгийн ийлдсийн МХЛ уургийн дундаж үзүүлэлтийг тодорхойлон, дундажийн ялгаатай байдлыг үл хамааралт Т тест (Independent T test) үнэлэхэд ач холбогдлын 0.05 түвшинд тохиолдлын бүлгийн хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн хэмжээ, хяналтын бүлгийн хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн хэмжээнээс статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байна (Хүснэгт 6).

Хүснэгт 6. Тохиолдол-хяналтын бүлгийн ийлдсийн МХЛ уургийн хэмжээ

Бүлэг	n	Дундаж	Стандарт хазайлт	Стандарт алдаа	95% CI	p-утга
Хяналт	71	2326.70	720.76	85.53	-1801.6- -1279.1	0.0001
Тохиолдол	71	3867.04	848.76	100.7		

Тайлбар: p≥0.05 статистик ач холбогдолтой

Тохиолдол-хяналтын бүлгийн rs11003125 полиморфизмын генотипүүдийн ийлдсийн МХЛ уургийн дундажийг тус тусад нь тодорхойлон, дундажийн ялгаатай байдлыг Student-T тестээр үнэлэхэд ач холбогдлын 0.05 түвшинд тохиолдлын бүлгийн GG, GC генотиптэй хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн хэмжээ статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байна (Хүснэгт 7).

Хүснэгт 7. rs11003125 полиморфизмын генотип, ийлдсийн МХЛ уургийн хэмжээ

Генотип	Тохиолдлын бүлэг		Хяналтын бүлэг		
	Дундаж	Стандарт хазайлт	Дундаж	Стандарт хазайлт	p-утга
GG	3851.31	839.2	2328.87	741.6	0.001
GC	3962.50	882.5	2293.89	689.6	0.001
CC	3075.72	221.04	2786.90	-	N

Тайлбар: p≥0.05 статистик ач холбогдолтой

Хэлцэмж: Харшлын гаралтай гуурсан хоолойн багтраа нь олон ген, тэдгээр ген орчин хоорондын харилцан үйлчлэлээр үүсдэг гетерозигот фенотиптэй нарийн нийлмэл генетикийн өвчин юм.[12] MBL2 генийн промотор хэсгийн -550 байрлал дээр гуанин цитозиноор солигдсоны улмаас уургийн транскрипцийн зохицуулга алдагдаж, ийлдсийн МХЛ уургийн түвшинд нөлөөлдөг.[13] Бид тохиолдол-хяналтын судалгааны загвараар MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын генотип, аллель, МХЛ уургийн хэмжээг гуурсан хоолойн багтраатай холбон судлахад хяналтын бүлэгтэй харьцуулах тохиолдлын бүлэгт эрсдэлт генотип GC-CC давтамж 9.8%, эрсдэлт аллель C давтамж 5.6% их, иилдсийн МХЛ уургийн хэмжээ ач холбогдол бүхий ялгаатай илэрсэн. Б.Гантулга нарын MBL2 генийн rs7096206 полиморфизмыг атопи эмгэгтэй хүмүүст тодорхойлсон судалгаагаар эрсдэлт генотип, эрсдэлт аллелийн давтамж хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад тохиолдлын бүлэгт илүү илэрсэн судалгааны үр дүнтэй ойролцоо байлаа.[14]

Эрүүл насанд хүрсэн хүнд МХЛ уургийн түвшин ойролцоогоор 1000ng/ml хэвийн, ≥500ng/ml бол дутагдалтай, үрэвслийн хариу урвалын үед хэвийн хэмжээнээс 3-4 дахин ихэсдэг.[15,16] Ийлдсийн МХЛ уургийн түвшин ихсэх нь бактери, вирусын халдвараас хамгаалах, үрэвслийн урвалыг зохицуулахад чухал хэдий ч эсийн доторх паразитын халдвар, аутоиммун, атопийн өвчинд өртөмхий, МХЛ уургийн түвшин багасах нь эсийг доторх паразитын халдварт тэсвэртэй, бактери болон вирусын халдварт өртөмхий байдлыг нэмэгдүүлдэг.[17] Тухайлбал systhemic lupus erythematosus зэрэг аутоиммун өвчний үед МХЛ уургийн түвшин хэвийн хэмжээнээс их байна:[18]

Солонгос, Финлянд, Хятад, Африк зэрэг улсад MBL2 генийн зарим полиморфизм нь халдварт өвчин, харшлын өвчин зэрэг олон өвчний эмгэг жамд оролцож байгаа нь судлагдаж, генийн үйл ажиллагаа, полиморфизмын ялгаатай байдал нь өвчний эмчилгээний хариу урвал, хүндрэлд нөлөөлдөг болох нь тогтоогдсон.[19]

Дүгнэлт:

1. MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын генотип GG (261 х.н), GC (261+239+22 х.н) CC (239+22 х.н) урттай тодорхойлогдсон.
2. MBL2 генийн rs11003125 полиморфизмын эрсдэлт генотип GC-CC харьцангуй эрүүл хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад гуурсан хоолойн багтраатай тохиолдлын бүлэгт 9.8% их, эрсдэлт аллель C 5.6% их илэрч байна.
3. Тохиолдол-хяналтын бүлгийн GG, GC, CC генотиптэй хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн дундажийг тодорхойлон, ялгаатай байдлыг үнэлэхэд ач холбогдлын 0.05 түвшинд GG, GC генотиптэй хүмүүсийн ийлдсийн МХЛ уургийн хэмжээ ач холбогдол бүхий (p≤0.0001) ялгаатай илэрлээ.

Ёс зүйн зөвшөөрөл: АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хяналтын хорооны 2020 оны 06 сарын 12-ны өдрийн 2020/3-05 тоот хурлаар судалгааны арга, аргачлалыг хэлэлцүүлж, судалгааг эхлүүлэх ёс зүйн зөвшөөрөл авсан.

Талархал: Уг судалгааны ажлыг хийхэд гүн туслалцаа үзүүлсэн АШУҮИС, Био-Анагаахын сургуулийн "Биохимийн тэнхим"-ийн хамт олон, "Эффект" харшил астмын эмнэлэг, ЦССҮТ, Ионсейн төслийн баг хамт олонд талархал илэрхийлье.

Ном зүй:

1. *Checkley W, Robinson CL, Baumann LM, et al. Effect of urbanisation on the relationship between total serum IgE and asthma. The European respiratory journal. 2013;41(5):1074-1081.*
2. *Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet (London, England). 2017;390(10100):1211-1259.*
3. *2016: GHE. Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. . Geneva, World Health Organization; . 2018.*
4. *Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. Masoli, M, Fabian, D, Holt, S, Beasley, R; Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee Report. Allergy 59: 469-478. Allergy. 2004;59:469-478.*
5. *Bousquet J, Bousquet PJ, Godard P, Daures JP. The public health implications of asthma. Bulletin of the World Health Organization. 2005;83(7):548-554.*
6. *Мөнхбаярлах С МС. Монгол улс дахь амьсгалын замын архаг өвчнүүдийн тархалт, урьдчилан сэргийлэлт болон хяналтын чиг хандлагыг тодорхойлох судалгааны тайлан. Улаанбаатар 2011.*
7. *Deichmann KA, Starke B, Schlenther S, et al. Linkage and association studies of atopy and the chromosome 11q13 region. Journal of medical genetics. 1999;36(5):379-382.*
8. *Lazarus R, Vercelli D, Palmer LJ, et al. Single nucleotide polymorphisms in innate immunity genes: abundant variation and potential role in complex human disease. Immunological reviews. 2002;190:9-25.*
9. *Auriti C, Prencipe G, Moriondo M, et al. Mannose-Binding Lectin: Biologic Characteristics and Role in the Susceptibility to Infections and Ischemia-Reperfusion Related Injury in Critically Ill Neonates. Journal of immunology research. 2017;2017:7045630.*
10. *Tsutsumi A, Sasaki K, Wakamiya N, et al. Mannose-binding lectin gene: polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome. Genes and immunity. 2001;2(2):99-104.*
11. *Borta S, Popetiu R, Donath-Miklos I, Puschita M. Genetic Polymorphism of MBL 2 in Patients with Allergic Bronchial Asthma. Maedica (Buchar). 2019;14(3):208-212.*
12. *Kaur S, Gupta VK, Shah A, Thiel S, Sarma PU, Madan T. Elevated levels of mannan-binding lectin [corrected] (MBL) and eosinophilia in patients of bronchial asthma with allergic rhinitis and allergic bronchopulmonary aspergillosis associate with a novel intronic polymorphism in MBL. Clinical and experimental immunology. 2006;143(3):414-419.*
13. *Wallis R, Shaw JM, Uitdehaag J, Chen CB, Torgersen D, Drickamer K. Localization of the serine protease-binding sites in the collagen-like domain of mannose-binding protein: indirect effects of naturally occurring mutations on protease binding and activation. The Journal of biological chemistry. 2004;279(14):14065-14073.*
14. *Б.Гантулга ЛН, С.Пүрэвсүрэн. Атопийн эмгэгтэй хүмүүст MBL2 генийн errs полиморфизмыг манноз холбогч лектин уурагтай холбон судалсан дүн. Iп. Анагаах Ухааны магистрын зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл2020.*
15. *Dean M, Minchinton R, Heatley S, Eisen D. Mannose Binding Lectin Acute Phase Activity in Patients with Severe Infection. Journal of clinical immunology. 2005;25:346-352.*
16. *Eisen DP, Dean MM, Boermeester MA, et al. Low Serum Mannose-Binding Lectin Level Increases the Risk of Death due to Pneumococcal Infection. Clinical Infectious Diseases. 2008;47(4):510-516.*
17. *Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. Molecular immunology. 2003;40(7):423-429.*
18. *Pradhan V, Surve P, Ghosh K. Mannose binding lectin (MBL) in autoimmunity and its role in systemic lupus Erythematosus (SLE). The Journal of the Association of Physicians of India. 2010;58:688-690.*
19. *Worthley DL, Bardy PG, Mullighan CG. Mannose-binding lectin: biology and clinical implications. Internal medicine journal. 2005;35(9):548-555.*

Determination of relationship between rs11003125 polymorphism of MBL2 gene and mannose binding lectin protein level in people with asthma

Altanshagai Ch[1,4], Gantulga B[2], Enkhbayar B[3], Munkhbayarlakh S[5], Buyankhuu T[4], Narantsetseg L[4]

[1]Gerontology National Center
[2]Agape hospital
[3]Ач АУИС"Effect" allergy, asthma hospital
[4]MNUMS, Bio-Medical School, Biochemical department
Email: Altanshagai.mnums@gmail.com, Tel:89555961

The Global Initiative for Asthma (GINA) has defined chronic bronchitis change hypersensitivity reactions and bronchial sensitivity due to internal or external causes. Our study aims to determine relationship between rs11003125 polymorphism of MBL2 gene and mannose binding lectin protein level in relative health and people with asthma. We conclude MBL2 gene rs11003125 polymorphism risk genotype GC-CC was 9.8% higher in the group of cases with bronchial asthma than in the relatively healthy control group, the risk allele C was 5.6% higher in the case-control group GG, GC, and CC genotypes. Significant differences were identified in the serum MHL protein levels of individuals with GG and GC genotypes at the 0.05 level of significance for identification and evaluation of differences.

Keyword: Genotype, allele, mannose bindind lectin protein, rs11003125 polymorphism,