

ความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนพาราออกซิเนส 2 ชนิด A148G ต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2

Associations of *Paraoxonase 2* A148G Gene Polymorphism on Coronary Heart Disease in Type 2 Diabetic Patients

ณัฐพัชร์ โหบาง^{1*}, ธวัชชัย พีรพัฒน์ดิษฐ์², ดำรัส ตริสุโกศล², ศุภชัย รัตนมณีฉัตร³ และ อธิป ลิขิตลิลิต¹
Nattapat Hobang^{1*}, Thavatchai Peerapatdit², Damras Tresukosol², Suphachai Ratanamaneechat³ and Atip Likidilid¹

¹ภาควิชาชีวเคมี; ²ภาควิชาอายุรศาสตร์; ³ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700

¹Department of Biochemistry; ²Department of Medicine; ³Department of Preventive and Social Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700

*Corresponding author: nattapah@mtec.or.th

บทคัดย่อ

พาราออกซิเนส (PON) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งการย่อยสลาย arylesterase ของ organophosphates หรือ lactone และป้องกันปฏิกิริยา lipid peroxidation ของไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำและสูงในหลอดเลือด จึงเป็นการชี้แนะว่าเอนไซม์พาราออกซิเนสมีบทบาทที่สำคัญในการพัฒนาการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือการศึกษความสัมพันธ์ของความหลากหลายของยีน *PON2* ชนิด A148G ต่อการเป็น ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคเบาหวานและโรคหลอดเลือดหัวใจโดยแบ่งผู้ทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม 149 คน, กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 155 คน และ กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคหลอดเลือดหัวใจแทรกซ้อน 147 คน การศึกษาลักษณะจีโนไทป์ทำโดยวิธีเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์และนำผลผลิตของพีซีอาร์มาวิเคราะห์ด้วย เอนไซม์ตัดจำเพาะ ผลการทดลองพบว่าความหลากหลายของยีน *PON2* ชนิด A148G สัมพันธ์กับการเกิดโรคเบาหวานและโรคหลอดเลือดหัวใจโดยพบว่าทั้งความถี่ของจีโนไทป์ GG และความถี่ของอัลลีล G ของความหลากหลายของยีน *PON2* ชนิด A148G มีค่าสูงอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ที่มีโรคหลอดเลือดหัวใจแทรกซ้อนและกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ ขณะที่ความเสี่ยงของการเกิดโรคเบาหวานและโรคหลอดเลือดหัวใจสามารถประเมินได้จากค่า odds ratio (OR) ซึ่งพบว่าทั้งจีโนไทป์ GG และอัลลีล G มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานประเภทที่ 2 และในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ที่มีโรคหลอดเลือดหัวใจแทรกซ้อนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ

ABSTRACT

Paraoxonase (PON) catalyses the hydrolysis of arylesterase, organophosphates or lactone and protects low-density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL) from oxidative modification in vitro by hydrolyzing lipid peroxides, suggestive of a role for paraoxonase in the development of atherosclerosis. This study was undertaken to investigate the associations of *PON2* A148G polymorphism with the risk of diabetes and coronary heart disease (CHD). They were genotyped in 155 T2DM without CHD patients, 147 T2DM with CHD patients and 149 controls using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The results showed that both 148GG genotype and 148G allele were significantly higher in T2DM with and without CHD when compared with controls while, the odds ratio (OR) for the risks of T2DM and CHD were also significantly higher in T2DM with and without CHD when compared with controls.

คำสำคัญ: พาราออกซิเนส, พีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี, โรคหลอดเลือดหัวใจ

Keywords: paraoxonase, PCR-RFLP, coronary heart disease (CHD)

INTRODUCTION

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a multifactorial metabolic disease with defect in insulin secretion and/or insulin action contributing to hyperglycemia. T2DM is associated with clusters of abnormality such as insulin resistance, hypertension, dyslipidemia, and obesity, all of which are involved in the acceleration of atherosclerosis (Laakso, 2001). The *PON2* gene has been reported to associate with insulin resistance and T2DM susceptibility genes, namely *pyruvate dehydrogenase kinase (PDK4)* (Prochazk, 1995). One hot spot polymorphism was found in coding sequence of *PON2* gene at codon 148 by alanine to glycine substitution (A148G) (Hegele, 1997). Therefore, the variant of the *PON2* gene at A148G in exon 5 can lead to dyslipidemia and increase the risk for development of diabetes (DM), CHD, or both.

MATERIALS AND METHODS

1. Subjects

The according to the criteria in each group as previously described by Chaudhary *et al.* (Chaudhary, 2012). The study protocol was approved by the Ethics Committee for Siriraj Institutional Review Board of the Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University.

2. Genotyping of DNA

The genomic DNA was extracted from leukocytes in samples from whole blood. The *PON2* at A148G in exon 5 was characterized by PCR-RFLP as previously described by Hegele *et al.* (Hegele, 1997).

3. Statistical analysis

All statistical analysis as previously described by Chaudhary *et al.* (2012).

RESULTS AND DISCUSSION

In *PON2* A148G polymorphism, there were significantly higher frequencies of the GG genotype in T2DM with and without CHD when compared with control group ($p=0.006$ and 0.023 , respectively) and the G allele frequencies were also significantly higher in T2DM with and without CHD when compared with control group ($p=0.003$ and 0.005 , respectively) as shown in Table 1.

Table 1 Comparison of genotype and allele frequencies of *PON2* A148G polymorphism in healthy controls, T2DM with and without CHD.

PON2 A148G Genotype & allele	Groups		
	Healthy controls (n=149)	T2DM (n=155)	T2DM with CHD (n=147)
AA	99 (66%)	83 (53%)	79 (54%)
AG	46 (31%)	57 (37%)	51 (35%)
GG	4 (3%)	15 (10%)	17 (11%)
χ^2	-	5.20	7.56
p-value	-	0.023*	0.006*
Allele A	244 (82%)	223 (72%)	209 (71%)
Allele G	54 (18%)	87 (28%)	85 (29%)
χ^2	-	7.89	9.00
p-value	-	0.005*	0.003*

(*) presents statistical significant ($p < 0.05$)

With regard to the risk of *PON2* polymorphisms contributing to the T2DM with and without CHD, we determined these associations with unadjusted odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI). The GG genotype at position 148 appeared to be the risks of both T2DM with and without CHD with odds ratio 4.74 (95% CI; 1.56-14.45) $p=0.006$ and 3.88 (95% CI; 1.26-11.99) $p=0.023$, respectively, as shown in Table 2. G allele also appeared to be the risk of both T2DM with and without CHD with odds ratio 1.84 (95% CI; 1.22-2.76), $p=0.003$ and 1.76 (95% CI; 1.18-2.64), $p=0.005$, respectively.

Table 2 Comparison of odds ratio of each genotype and allele of *PON2* A148G polymorphism in healthy controls, T2DM with and without CHD.

<i>PON2</i> A148G	Groups						
	Healthy controls (n=149)	T2DM (n=155)			T2DM with CHD (n=147)		
Genotype & allele		No.	OR (95% CI)	p- value	No.	OR (95% CI)	p- value
AA	99 (66%)	83 (53%)	0.58 (0.37-0.93)	0.030	79 (54%)	0.59 (0.37-0.94)	0.035
AG	46 (31%)	57 (37%)	1.30 (0.81-2.10)	0.334	51 (35%)	1.19 (0.73-1.93)	0.564
GG	4 (3%)	15 (10%)	3.88 (1.26-11.99)	0.023*	17 (11%)	4.74 (1.56-14.45)	0.006 *
Allele A	244 (82%)	223 (72%)			209 (71%)		
Allele G	54 (18%)	87 (28%)			85 (29%)		
Odds ratio (95% CI)	-	1.76 (1.18-2.64)			1.84 (1.22-2.76)		
p-value	-	0.005*			0.003*		

(*) represents statistical significant ($p<0.05$)

CONCLUSION

The variant examined at the *PON2* A148G in Thai population appear to be a major contributor of T2DM and CHD risk. It is possible that these variants can accelerate the development of both T2DM and CHD in Thai population, providing an evidence for the role of *PON2* A148G polymorphism in association with T2DM and CHD development.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Endocrine Society of Thailand and the Graduate Thesis Scholarship grant from faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University.

REFERENCES

- Chaudhary R, Likidlilid A, Peerapatdit T, Tresukosol D, Srisuma S, Ratanamaneechat S, Sriratanasathavorn C. Apolipoprotein E gene polymorphism: effects on plasma lipids and risk of type 2 diabetes and coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11:36.
- Hegele RA, Connelly PW, Scherer SW, Hanley AJ, Harris SB, Tsui LC, et al. Paraoxonase-2 gene (*PON2*) G148 variant associated with elevated fasting plasma glucose in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3373-7.
- Laakso. Cardiovascular disease in type 2 diabetes: challenge for treatment and prevention. *J Intern Med* 2001; 249: 225-235.
- Prochazka, M., Thompson, D.B., Scherer, S.W., Tsui, L.-C., Knowler, W.C., Bennett, P.H., Bogardus, C., 1995b. Linkage and association of insulin resistance and NIDDM with markers at 7q21.3-q22.1 in the Pima Indians. *Diabetes* 44 (Supplement 1): 42A.