

promoter SNP and its interaction with *TNF-α*-308 promoter SNP / Lio D. [et al.] // J Med Genet, 2003. - V.40 - P. 296-299.

10. TWEAK Attenuates the Transition from Innate to Adaptive Immunity / Maecker H. [et al.] // Cell, 2005. - P. 931-944.

11. Advancing age and insulin resistance: role of plasma tumor necrosis factor-α / Paolisso G. [et al.] // Am J Physiol Endocrin Metab., 1998. - V. 38 - P. E294-E299.

12. Variants of trophic factors and expression of cardiac hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy / Patel R. [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol., 2000. - V. 32 - P. 2369-77.

13. Transcriptional and posttranscriptional regulation of tumor necrosis factor gene expression in human monocytes / Sariban E., Imamura K., Leubbers R., Kufe D. // J. Clin. Invest., 1988. - V. 81 - P. 1506-1510.

14. Vaux D.L. The molecular biology of apoptosis / D.L. Vaux, A. Strasser // Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1996. - V.93 - N6. - P. 2239-2244.

15. Effects of a polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation / Wilson A.G. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997. - V. 94 - P. 3195-9.

Г.О. Дугарова, М.В. Голубенко, Е.Р. Еремина, Л.И. Минайчева,
С.В. Фадюшина

ПОЛИМОРФИЗМ G-308A ГЕНА *TNF-α* У БУРЯТ

УДК 577.21, 575.17

В настоящем исследовании определены частоты аллелей полиморфизма G-308A гена *TNF* у бурят по результатам изучения 16 субпопуляций из 5 районов Республики Бурятия (N=865). Показано, что частота аллеля A изучаемого полиморфизма у бурят составляет 11,5%. При сравнении с другими сибирскими популяциями найдены статистически значимые отличия от якутов. В нескольких субпопуляциях выявлено отклонение частот генотипов от закона Харди-Вайнберга. Расчет коэффициентов генной дифференциации для всех населенных пунктов ($G_{st}=0,0167$) и для 5 изучаемых районов ($G_{st}=0,0053$) показал, что значительной дифференциации генофонда бурят по данному полиморфизму не наблюдается. Полученные результаты дают характеристику распространенности у бурят функционально значимого полиморфизма, для которого известны ассоциации с различными мультифакториальными заболеваниями.

Ключевые слова: полиморфизм, ген фактора некроза опухоли, буряты.

G-308A polymorphism in the tumor necrosis factor-α (*TNF*) gene has been studied in the Buryat population by genotyping samples from 16 subpopulations from 5 areas of Republic Buryatiya (N=865). The *TNF*-α G-308A polymorphism was assessed by the PCR and restriction analysis. It has been shown that frequency of the A allele in Buryats was 11.5 %. At comparison with other Siberian populations, statistically significant differences with Yakuts were found. In several subpopulations the deviation of genotype frequencies from Hardy-Weinberg equilibrium was revealed. Calculation of genetic differentiation measure for all settlements ($G_{st}=0.0167$) and for 5 investigated areas ($G_{st}=0.0053$) did not demonstrate significant differentiation of a gene pool of Buryats by the given polymorphism. The results give for Buryat population the characteristics of prevalence of functionally significant polymorphism for which associations with various multifactorial diseases are known.

Keywords: polymorphism, the tumor necrosis factor-α gene, Buryats.

Введение

Известно, что риск развития так называемых мультифакториальных заболеваний определяется как факторами внешней среды, так и индивидуальным генотипом человека. Этническая составляющая генетической компоненты подверженности к мультифакториальным заболеваниям проявляется в разной частоте хронических болезней в популяциях, в различиях в составе наследственного компонента подверженности представителей разных рас и народов. В настоящее время идеология генетики распространенных заболеваний смещается от разрозненных исследований ассоциаций генов, их полиморфных вариантов и заболеваний к поиску общей генетической компоненты подверженности к определенному спектру патологии в конкретных популяциях и этнических группах [5].

Буряты как народность в процессе своего сложного и длительного формирования сложились из различных этнических компонентов. Основным ядром народности, ассимилировавшим и объединившим вокруг себя различные этнические группы, были монголоязычные племена, в то же время в этногенезе бурят отчетливо прослеживаются тюркские, тунгусские элементы [4]. Прибайкалье, территория современного расселения бурят, ещё с древности стала зоной активных контактов и взаимодействий различных по происхождению племен и народов. Для населения Республики Бурятия было проведено генетико-эпидемиологическое изучение распространенности и структуры наследственной патологии у населения Республики Бурятия [3], касающееся наследственных заболеваний менделевского типа наследования. В то же время практически нет данных о распространенности полиморфных вариантов генов-кандидатов предрасположенности к широко распространенным, или мультифакториальным заболеваниям (МФЗ). Такие исследования представляют интерес для изучения этнических особенностей структуры наследственной предрасположенности к МФЗ. Учитывая генетическую гетерогенность бурят, важно также оценить внутриэтническую структуру бурятского генофонда по распространенности отдельных полиморфизмов.

Фактор некроза опухоли – альфа (*TNF-α*) мультифункциональный провоспалительный цитокин, который индуцирует некроз опухолевых клеток. Этот цитокин через специфические рецепторы клеточной поверхности вызывает лизис клеток лимфомы, некроз саркомы, активирует полиморфноядерные лейкоциты, проявляет антивирусную активность [6]. Широкий спектр биологического действия *TNF-α* обуславливает его участие в формировании различных патологических состояний, таких как аутоиммунные, инфекционные, сердечно-сосудистые и другие заболевания [8,15,17].

Ген фактора некроза опухоли (*TNF*) расположен на 6-й хромосоме (6p21.3) в главном комплексе гистосовместимости. В промоторной зоне гена расположены несколько полиморфных вариантов, определяющих экспрессию *TNF-α*. [13]. Однонуклеотидная замена гуанина на аденин в положении -308 промотора (G-308A) приводит к увеличению продукции *TNF-α*. [7]. Частота аллеля A в разных популяциях мира варьирует от 0,03 до 0,27 [9,11,16].

Цель настоящего исследования – изучение полиморфизма G-308A гена *TNF-α* в различных популяциях бурят и оценка дифференциации бурятского генофонда по этому функционально значимому полиморфизму.

Материалы и методы

В настоящее исследование были включены 865 лиц бурятской нацио-

ДУГАРОВА Галина Октябрьевна – зав. МГК Детской республиканской клинической больницы, г. Улан-Удэ, neoscr@mail.ru; **ГОЛУБЕНКО Мария Владимировна** – к.б.н., с.н.с. НИИ медицинской генетики СО РАМН, г. Томск, maria.golubenko@medgenetics.ru; **ЕРЕМИНА Елена Робертовна** – к.м.н., директор Бурятского филиала НИИ МГ СО РАМН, г.Улан-Удэ, ereelrob@mail.ru; **МИНАЙЧЕВА Лариса Ивановна** – к.м.н., н.с. НИИ МГ СО РАМН, г. Томск, larisa.minaycheva@medgenetics.ru; **ФАДЮШИНА Светлана Валерьевна** – м.н.с. НИИ МГ СО РАМН, svetlana.fadyushina@medgenetics.ru.

Частоты аллелей и генотипов полиморфизма G-308A гена *TNF-α* у бурят

Район	Населенный пункт	GG	GA	AA	G	A
Джидинский (n=90)	Петропавловка (n=57)	0,70	0,25	0,05	0,8246	0,1754
	Верхний Торей (n=33)	0,82	0,18	0,00	0,9091	0,0909
	Всего по району	0,75	0,22	0,03	0,8556	0,1444
Кяхтинский (n=97)	Кяхта (n=17)	0,76	0,24	0,00	0,8824	0,1176
	Энхе-Толой (n=47)	0,83	0,15	0,02	0,9043	0,0957
	Кудара-Сомон (n=33)	0,91	0,09	0,00	0,9545	0,0455
Кижингинский (n=270)	Всего по району	0,85	0,14	0,01	0,9175	0,0825
	Кижинга* (n=75)	0,75	0,19	0,06	0,8400	0,1600
	Могсохон (n=96)	0,80	0,20	0,00	0,9010	0,0990
Еравнинский (n=188)	Усть-Орот (n=99)	0,83	0,16	0,01	0,9091	0,0909
	Всего по району	0,80	0,18	0,02	0,8870	0,1130
	Сосновоозерское (n=104)	0,81	0,18	0,01	0,8990	0,1010
Окинский (n=219)	Можайка (n=54)	0,89	0,11	0,00	0,9444	0,0556
	Усть-Эгита* (n=30)	0,80	0,13	0,07	0,8667	0,1333
	Всего по району	0,83	0,15	0,02	0,9069	0,0931
Окинский (n=219)	Сорок (n=31)	0,74	0,26	0,00	0,8710	0,1290
	Орлик* (n=84)	0,82	0,14	0,04	0,8929	0,1071
	Саяны (n=40)	0,73	0,25	0,03	0,8500	0,1500
	Хужир (n=44)	0,73	0,27	0,00	0,8636	0,1364
	Хурга* (n=20)	0,70	0,15	0,15	0,7750	0,2250
	Всего по району	0,76	0,21	0,03	0,8653	0,1347
Итого*		0,80	0,18	0,02	0,8860	0,1140

* Выборки с отклонениями от равновесия Харди-Вайнберга, при $P < 0,05$; n – количество обследованных.

нальности, проживающих в 16 населенных пунктах, расположенных в 5 районах Республики Бурятия. Джидинский и Кяхтинский районы находятся на юге Бурятии и граничат с Монголией. Еравнинский и Кижингинский районы расположены на востоке республики и имеют общую границу с Читинской областью. Перечисленные районы находятся в степной и лесостепной зонах, и доля бурят в национальном составе составляет 42-52%. В Окинском районе, сопредельном с Республикой Тыва и расположенном в горной местности (Восточные Саяны) на западе Бурятии, проживает 90% бурят. Все районы имеют автотранспортное сообщение со столицей Бурятии - городом Улан-Удэ. Образцы цельной венозной крови для исследования были собраны в ходе экспедиционных работ в 2004-2006 гг.

Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из крови по стандартной методике [10]. Генотипирование аллельных вариантов гена *TNF-α* осуществляли методом рестриционного анализа продуктов амплификации специфических участков генома (ПДРФ-анализ). Участок промоторного региона гена *TNF-α* амплифицировали с использованием пары специфических праймеров [18], затем продукты амплификации подвергались гидролизу эндонуклеазой рестрикции Bsp 19 I («Сибэнзим», г. Новосибирск), с последующей разгонкой в 8% полиакриламидном геле. Работа по выделению ДНК и генотипированию проведена на базе НИИ медицинской генетики СО РАМН.

Распределение генотипов исследо-

ванного полиморфного варианта проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (PXB) с помощью критерия χ^2 Пирсона [1,2]. При сравнении частот генотипов и аллелей использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Оценку степени генетической подразделенности популяции проводили с помощью коэффициента генной дифференциации Gst [14].

Результаты и обсуждение

Частоты генов и генотипов полиморфизма G-308A гена *TNF-α* у бурят представлены в таблице. В различных субпопуляциях бурят частота аллеля A гена *TNF-α* варьирует в интервале от 0,0455 (Кудара-Сомон, Кяхтинский район) до 0,2250 (Хурга, Окинский район). В суммарной выборке частота аллеля A составила 0,1150. Сравнение частот аллеля A, между исследованными районами Бурятии (между объединенными по районам выборками) не выявило статистически значимых отличий не в одном из случаев.

При проверке частот генотипов на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (PXB) в 4 населенных пунктах (Усть-Эгита (Еравнинский район), Кижинга (Кижингинский район), Орлик и Хурга (Окинский район) было выявлено значимое отличие соотношения генотипов от ожидаемого ($p < 0,05$). Перечисленные населенные пункты относятся к восточным Кижингинскому и Еравнинскому и горному западному Окинскому районам, и отклонения связаны во всех случаях с недостатком гетерозигот, а также избытком гомозигот AA. Причиной отклонения может быть

небольшая численность населения и, как результат, более высокий уровень инбридинга в данных населенных пунктах. Кроме того, в некоторых случаях несоответствие PXB может быть связано со слишком малой численностью генотипированной выборки. Для Джидинского и Кяхтинского районов, распределение генотипов во всех субпопуляционных выборках соответствовало ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга. Для объединенных по районам выборок, распределение частот генотипов в каждом из 5 районов подчинялось PXB. В то же время распределение генотипов полиморфизма G-308A гена *TNF-α* в объединенной выборке бурят (5 районов) не соответствовало PXB ($\chi^2 = 8,16$, $P < 0,05$). Однако после исключения из общей группы тех выборок, в которых наблюдалось отклонение от PXB, распределение генотипов соответствовало ожидаемому ($\chi^2 = 0,49$, $P > 0,05$). Подсчет коэффициентов генной дифференциации [14] для всех населенных пунктов (Gst=0,0167) и для 5 изучаемых районов (Gst=0,0053) показал, что значительной генетической подразделенности по данному полиморфизму не наблюдается. Значение показателя Gst для отдельных популяций бурят практически не отличается от полученного ранее при изучении 6 этнически различных сибирских популяций по этому полиморфизму (0,0127) [5].

Известно, что частота аллеля A полиморфизма G-308A в азиатских популяциях ниже, чем в европейских, и колеблется на уровне 2-6%, тогда как у европейцев она может достигать более 20%, согласно международной базе данных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP database) на сайте Национального Центра Биотехнологической Информации (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800629). Эти исследования были выполнены в основном на выборках японцев и китайцев. В то же время, согласно данным по распространенности полиморфизма G-308A в других популяциях Сибири (Голубенко М.В., неопубликованные данные) частота аллеля A полиморфизма G-308A гена *TNF-α* у русских составляет 0,1458, у тувинцев - 0,0833, у якутов - 0,1719 (численность выборок – 96 человек для каждой этнической группы). Частота аллеля A у томских татар варьирует от 0,1 до 0,12, у алтайцев составляет 0,12, а в еще одной субпопуляции бурят достигает 0,19 [5]. В таким образом, на территории Сибири этот полиморфизм является, по-видимому, более распространенным, чем

в Восточной Азии. Сравнение частоты аллеля А у бурят с русскими и тувинцами статистически значимых различий не выявило, но было получено достоверное различие частот данного полиморфизма между бурятами и якутами ($p < 0,05$). Эти результаты указывают на межэтнические различия в распространенности данного полиморфизма на территории Сибири.

Заключение

В настоящем исследовании дана характеристика распространенности и внутриэтнической дифференциации полиморфизма G-308A гена *TNF* у бурят по результатам изучения 16 субпопуляций из 5 районов Республики Бурятия. Данный полиморфизм является функционально значимым, так как для него показана ассоциация с уровнем *TNF-α*, и участвует в формировании подверженности к широкому спектру мультифакториальных заболеваний. Значительная частота аллеля А у бурят (11,5%) согласуется с данными по другим сибирским популяциям и в то же время значительно выше, чем в более южных районах Восточной Азии (Китай, Япония). Таким образом, можно предположить, что полиморфизм этого локуса вносит значимый вклад в формирование наследственной предрасположенности к различным мультифакториальным заболеваниям у бурят.

Авторы выражают благодарность сотрудникам НИИ медицинской генетики СО РАМН Л.П. Назаренко, С.В. Буйкину, Н.А. Андрейченко, В.Н. Харьков, главному врачу Детской республиканской клинической больницы Республики Бурятия А.Б.-Ж. Бимбаеву, сотрудникам Бурятского филиала НИИ медицинской генетики СО РАМН В.Б. Цыреновой, Л.Д. Мункуевой, В.Б. Аюшиной за организацию экспедиций и участие в сборе материала, а также А.Н. Кучер за помощь в статистической обработке данных.

Литература

1. Вейр Б. Анализ генетических данных / Б. Вейр. - М.: Мир, 1995. 400с.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов / Г.Ф. Лакин. - М.: Высшая школа, 1990. - 352 с.
3. Эпидемиологическое изучение наследственных заболеваний у сельского населения Республики Бурятия / Л.И. Минайчева [и др.] // Вестник Бурятского государственного университета. - Улан-Удэ, 2007. С. 14-16.
4. Нимаев Д.Д. Буряты: этногенез и этническая история / Д.Д. Нимаев. - Улан-Удэ: Издательско-полиграфический комплекс ВСГАКИ, 2000. - 190с.
5. Пузырев В.П. Генетическое разнообразие народонаселения и болезни человека / В.П. Пузырев, М.Б. Фрейдин, А.Н. Кучер. - Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. - 320 с.
6. Bazzoni F. The tumor necrosis factor ligand and receptor families / F. Bazzoni, B. Beutler // N Engl.J.Med. 1996. V. 334. P. 1717-1725.
7. Secretion of tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha in relation topolymorphisms in the inflammatorybowel disease / Bouma G. [et al.] //Scand. J. Immunol. 1996. V. 43(4). P. 456-463.
8. Gupta V. [et al.] Association of G-308A *TNF*-alpha polymorphisms with bronchial asthma in a North Indian population / V. Gupta [et al.] // J Asthma. - 2005. V. 12. P. 839 - 841.
9. Polymorphisms of the tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 genes in Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy / Ito M. [et al.] // Jpn. Heart J. 2000.V.41.P. 183 -191.
10. Johns M. Purification of human genomic DNA from whole blood using sodium perchlorate in place of phenol / M. Johns, J. Paulus-Thomas // Anal. Biochem. 1989. V. 180. № 2. P. 276-278.
11. Keatings V.M. A Polymorphisms in the tumor necrosis factor-α gene promoter region may predispose to a poor prognosis in COPD / V.M. Keatings [et al.] // Chest. - 2000.V. 118.P. 971-975.
12. Mangia A. IL-10 haplotypes as possible predictors of spontaneous clearance of HCV infection / A. Mangia [et al.] // Cytokine. - 2004. V. 3.P. 103-109.
13. Nedwin G. E. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization / G. E. Nedwin [et al.] // Nucleic Acids Res. - 1985. V.13. P 6361 - 6373.
14. Nei M. Molecular population genetics and evolution / M. Nei. - Amsterdam: North Holland publishing company; New York: Oxford American Elsevier publishing company, 1975. 288 p.
15. Ramasawmy R. Association of polymorphisms within the promoter region of the tumor necrosis factor-alpha with clinical outcomes of rheumatic fever / R. Ramasawmy [et al.] // J. Mol Immunol. - 2007. V. 44. P. 1873-1878.
16. Rosmond R. G-308A Polymorphisms of the tumor necrosis factor alpha gene promoter and salivary cortical secretion / R. Rosmond [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2001. V. 86.P.2178-2180.
17. Shiau M.Y. [et al.] Cytokine promoter polymorphisms in Taiwanese patients with Graves' disease / M.Y. Shiau [et al.] // J.Clin Biochem. 2007. V. 40. P. 213-217.
18. Wilson A.G. Single base polymorphisms in the human tumor necrosis factor alpha (*TNF-α*) gene detectable by NcoI restriction of PCR product / A.G. Wilson [et al.] // Hum. Mol. Genet. - 1992. - V.1. - P.400 c.

С.И. Семенов, М.В. Терехова, Л.Д. Индеева, Н.Н. Павлов, С.Н. Кузин, М.М. Писарева, М.П. Грудинин, Л.А. Балахонцева, Т.П. Серкина

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ГЕПАТИТА С В ЯКУТИИ

УДК 578.891(571.56)

Цель исследования. Выявить циркуляции генотипов вируса гепатита С у больных гепатитом С в якутской популяции.

Материал и методы исследований. Исследована сыворотка крови 126 больных хроническим гепатитом С, из них 42 больных с ВИЧ-инфекцией. Генотипирование вируса проводилось с применением ПЦР-тест-систем, позволяющих определить генотипы ВГС: 1a, 1b, 2, 3a.

Результаты. В Республике Саха заболеваемость гепатитом С не превышала среднероссийский уровень. Вирусоносительство понизилось от 188,4 до 59,2 на 100 тыс.населения. Гепатит 1b вируса гепатита С выявлен у 67,4

- 76,4%, генотип 3a у 10,9 - 18,8% больных хроническим моногепатитом С. Среди больных хроническим гепатитом С с ВИЧ-инфекцией у 43% выявлен генотип 1b и у 35,7% - генотип 3a. Обнаружено сочетание различных комбинаций генотипов вируса С - 1b+3a, 1b+2a, 1b+1a, 1a+2a.

Выводы. Заболеваемость гепатитом С в Якутии ниже российской. Установлено, что в Якутии основными генотипами вируса С, вызывающими хронический вирусный гепатит С у населения, являются 1b (68,8-76,4%) и значительно меньше 3a (13,4-18,8%)

Ключевые слова: гепатит С, ОГС, хронический гепатит С, ХГС, генотип 1b, генотип 3a.

The purpose of research. To reveal circulation of hepatitis C virus genotypes in patients with hepatitis C in the Yakut population.

Material and methods of research. Blood serum of 126 patients with chronic hepatitis C, from them 42 patients with HIV-infection is investigated. Virus genotyping was held with application of PCR-test-system, allowing determining VHC genotypes: 1a, 1b, 2, 3a.

Results. In Republic Sakha hepatitis C morbidity did not exceed mean Russia's level. Virus carrying decreased from 188, 4 up to 59, 2 on 100 thousand population. The virus of hepatitis C is revealed in 67, 4-76, 4 %, the genotype 3a in 10,9-18,8 % of patients with chronic monohepatitis C. Among patients with chronic hepatitis C with HIV-infection in 43 % - genotype 1b is revealed and in 35,7 % - a genotype 3a. The combination of various combinations of genotypes of virus C - 1b + 3a, 1b + 2a, 1b + 1a, 1a + 2a is revealed.

Conclusions. Hepatitis C morbidity in Yakutia is below Russian one. It is established, that in Yakutia the basic genotypes of a virus C, causing a chronic virus hepatitis C in the population, are 1b (68, 8-76, 4 %) and much less 3a (13, 4-18, 8 %).

Keywords: hepatitis C, AHC, chronic hepatitis C, CHC, genotype 1b, genotype 3a.

СЕМЕНОВ Сергей Иннокентьевич – д.м.н., зав. группой генетич. исслед-й ФГНУ «Институт здоровья»; **ТЕРЕХОВА Маргарита Валерьевна** – врач-инфекционист, зав. поликлиникой ГУ Якутский респ. Центр по профилактике и борьбе со СПИД, terekhova_mv@mail.ru; **ИНДЕЕВА Любовь Дмитриевна** – врач-ординатор ПИТ Якутской городской клинич. больницы, vaks@sakha.ru; **ПАВЛОВ Николай Николаевич** – к.м.н., директор ОАО «Центр иммунопрофилактики»; **КУЗИН Станислав Николаевич** – д.м.н., зав. лаб. ФГУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН, Москва, drkuzin@mail.ru; **ГРУДИНИН Борис Павлович** – к.б.н., зав. НИИ гриппа РАМН, СПб.; **ПИСАРЕВА Мария Михайловна** – к.б.н., с.н.с. НИИ гриппа РАМН, Санкт-Петербург; **СЕРКИНА Тамара Павловна** – зав. лаб. Центра по профилактике и борьбе со СПИД; **БАЛАХОНЦЕВА Людмила Анатольевна** – руковод. Дальневосточного окружного Центра СПИД.