

УДК: 575.174.015.3

СТРУКТУРА НАСЕЛЕНИЯ ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ПОЛИМОРФНЫМ ВАРИАНТАМ ApaI И TaqI ГЕНА VDR3

А.М. ФЕДОТА, А.А. СНУРНИКОВА

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина
Украина, 61022, Харьков, площадь Свободы, 4
e-mail: afedota@mail.ru

Цель. Витамин D обладает широким диапазоном фундаментальных биологических функций, а ген рецептора к витамину D3 рассматривается как предиктор ряда мультифакториальных заболеваний. Однако приводимые в литературе результаты тестирования населения различных регионов мира по гену VDR3 неоднозначны, в связи с чем целью исследования стало определение частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов ApaI и TaqI гена VDR3 у населения Харьковской области. **Методы.** На образцах ДНК 61 здорового человека исследованы однонуклеотидные полиморфизмы 61888G>T (ApaI) и 61968T>C (TaqI) гена VDR3 у жителей Харьковской области. **Результаты.** Частота аллеля A составила 0,62, а – 0,38, T – 0,68, t – 0,32; результаты сопоставимы с данными по западноукраинской и европейскими популяциям. Частоты генотипов AA, Aa, aa составили 25 %, 75 %, 0 %, сходны с данными по западноукраинской популяции, но статистически значимо отличаются от распределения частот в европейских странах. Избыток гетерозигот и отсутствие гомозигот по аллелю а может свидетельствовать о селективной значимости локуса rs7975232 среди изучаемого населения. Частоты генотипов TT, Tt и tt составили 51 %, 34 % и 15 %, статистически значимых отличий от распределения генотипов в западной Украине и Европе не отмечено. **Выводы.** Информация о частотах аллелей и генотипов по исследуемому гену среди населения харьковского региона может быть использована для анализа их ассоциаций с патологиями, структуры населения и популяционных процессов.

Ключевые слова: ген VDR3, полиморфные варианты 61888G>T (ApaI) и 61968T>C (TaqI), частоты генов и генотипов.

Введение. Витамин D обладает широким диапазоном фундаментальных биологических функций: участвует в поддержании кальциевого гомеостаза, иммунного ответа, влияет на транскрипцию более чем 200 генов. Рецепторы к витамину D обнаружены в 38 тканях и органах [1]. Метаболиты витамина D осуществляют контроль клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза [2, 3]. Витамин D является главным компонентом гормональной системы, регулирующей фосфорно-кальциевый обмен, участвует в минерализации костной ткани и оказывает непосредственное влияние на процессы ремоделирования [4]. Все эти эффекты осуществляются при взаимодействии кальцитриола с рецепторами к витамину D3 (VDR3), которые относятся к семейству ядерных стероидных, эстрогеновых и ретиноидных рецепторов.

Ген рецептора 1,25-дигидроксивитамина D3 (VDR3; OMIM 601769) локализован в 12q13.11 и состоит из 11 экзонов. На сегодняшний день активно из-

учаются такие полиморфные варианты гена *VDR3*, как 27823C>T (FokI) в экзоне 2, 60890G>A (BsmI) и 61888G>T (ApaI) в интроне 8, 61968T>C (TaqI) в экзоне 9, и их ассоциации с мультифакториальными заболеваниями, такими как онкопатологии, остеопороз, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, сахарный диабет, псориаз и другие [2,3,5–7].

Однако описанные в литературе данные о частотах аллелей и генотипов по гену *VDR3* и ассоциации их с патологиями в отдельных странах неоднозначны и не всегда могут быть использованы для населения других климатогеографических зон и другого этнического состава. Поэтому любые исследования, касающиеся выявления связи полиморфных вариантов ApaI (rs7975232) и TaqI (rs731236) гена рецептора к витамину D3 с заболеваниями, расчеты величин относительного риска развития заболевания, должны быть основаны на данных о частоте аллелей и генотипов в каждой конкретной популяции.

В связи с этим целью настоящей работы стало исследование частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов ApaI и TaqI гена *VDR3* у населения Харьковской области.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы периферической крови 61 жителя Харькова и Харьковской области в возрасте от 16 до 73 лет без признаков тяжелых хронических заболеваний. От всех участников исследования или их родственников было получено информированное письменное согласие на участие в данной работе.

Выделение ДНК проводилось с помощью наборов для экстракции ДНК Diatom DNA Prep 100 («Изоген», РФ). Анализировались два полиморфизма гена *VDR3*: 61888G>T (ApaI) в интроне 8 и (61968T>C) TaqI в экзоне 9. Реакция амплификации

проводилась с использованием пар праймеров по Park et.al. [7]. Для дальнейшего рестрикционного анализа применялись эндонуклеазы рестрикции ApaI (16–18 часов, 37 °C) и TaqI (3 часа, 65 °C) («Fermentas», Литва). Электрофоретический анализ проведен в 2 % агарозном геле. Оценка результатов рестрикции осуществлялась по анализу рестрикционной картины электрофореграммы.

При проведении статистического анализа разница частот аллелей и генотипов оценивалась с помощью ϕ -преобразования Фишера путём угловой трансформации. Оценка равенства рядов распределения проведена с помощью критерия χ^2 на уровне значимости 0,05, 0,01, 0,001 [8].

Результаты и обсуждение

Проведен сравнительный анализ половозрастного распределения и этнического состава в харьковской популяции и в исследуемой группе, для того, чтобы исследуемую группу, которую составили представители обоих полов различного возраста, проживающие на территории Харькова и области, можно было рассматривать как выборку из населения. Соотношение полов в исследуемой группе статистически значимо не отличается от такового в харьковской популяции. Анализ распределения по возрасту (15–19, 20–24.....70–74 года) представителей харьковской популяции и контрольной группы также не показал статистически значимых различий ($df=11$, $\chi^2_{ст}=19,68$; $\chi^2_{\phi}=16,72$; $p>0,05$).

Этнический состав населения Харькова и области по данным официальной статистики представлен украинцами (63 %), русскими (33 %), другими национальностями – (4 %). Исследуемую группу составили украинцы (69 %), русские (28 %), представители других этнических групп (молдаване, болгары и другие – 3 %). Часть пробандов имеют повышенную степень экзогамии родителей, являясь по-

томками браков украинцев или русских с поляками, белорусами, гагаузами, татарами, евреями, но относит себя к украинцам или русским, однако такая же тенденция отмечена и для популяции в целом. Таким образом, распределение этносов в исследуемой группе статистически значимо не отличается от этнического состава популяции, что вместе с данными о половозрастном распределении позволяет считать исследуемую группу выборкой из населения.

В ходе дальнейшего исследования рассчитаны частоты аллелей *ApaI* и *TaqI* гена *VDR3* в исследуемой группе: $P_A = 0,62$ $p_a = 0,38$; $P_T = 0,68$ $p_t = 0,32$.

В работе, выполненной Н.О. Гнатейко и др. [9], представлены результаты генетического тестирования 35 пациентов, проживающих на территории западной Украины. Приведенные авторами частоты аллелей $P_A = 0,69$ $p_a = 0,31$; $P_T = 0,68$ $p_t = 0,32$ согласуются с полученными нами данными ($p > 0,05$).

По данным Dayangac-Erden D., в Турции частоты аллелей А и а составили 0,57 и 0,43; и не имеют статистически значимых отличий от полученных нами [10, 11]. По данным Park B.-S., в Корее частоты аллелей *ApaI* составили 0.17 и 0.83 соответственно, согласуются с данными ряда других авторов, показывающих преобладание аллелей а и Т в азиатских популяциях [7] и статистически значимо отличаются от полученных частот среди украинского населения ($p < 0,01$).

Частоты аллелей Т и т в Великобритании составили 0,68 и 0,32 [10], в Турции – 0,59 и 0,41 [11], в Западной Сибири (Россия) – 0,70 и 0,30 [13]; Австралии – 0,77 и 0,33 соответственно [14], что сопоставимо с результатами по восточно-украинской популяции.

На основании полученных нами частот анализируемых аллелей рассчитано тео-

ретическое число генотипов для панмиксной популяции.

Фактическое распределение генотипов полиморфизма *ApaI* статистически значимо отличается от теоретически ожидаемого при равновесии (табл. 1).

Таблица 1. Распределение генотипов полиморфизма *ApaI* в выборке

Распределение	AA		Aa		aa	
	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Фактическое	15	25	46	75	0	0
Теоретическое	24	39	28	47	9	14
Статистики	df=2, $\chi^2_{ст}=13,82$; $\chi^2_{ф}=23,95$, $p < 0,001$					

Избыток гетерозигот и отсутствие гомозигот по аллелю а может свидетельствовать о том, что локус rs7975232 является селективно значимым для изучаемого населения.

Полученные нами результаты сопоставимы с частотами генотипов в западной Украине (AA–40 %, Aa–57 %, aa–3 %, $p > 0,05$) [9], но статистически значимо отличаются от распределения генотипов во Франции (AA–30 %, Aa–50 %, aa–20 %), Греции (AA–36 %, Aa–43 %, aa–21 %) ($p < 0,001$) [15], Турции (AA–30 %, Aa–55 %, aa–15 %) ($p < 0,01$) [11]. Анализ данной литературы позволяет отметить, что частота генотипа aa увеличивается по мере удаления от полюса к экватору. В странах Восточной Азии – Корее и Китае – частоты генотипов AA и aa составляют 3 % и 69 %; 9 % и 54 % соответственно [15].

По полиморфизму *TaqI* структура изучаемой группы соответствует соотношению Харди-Вайнберга.

Полученные нами результаты сопоставимы с распределением генотипов в западной Украине, где частоты генотипов TT, Tt и tt составили 53 %, 30 % и 17 % [9], Греции – 38 %, 41 % и 21 % ($p > 0,05$), Фран-

Таблица 2. Распределение генотипов полиморфного варианта *TaqI* в выборке

Распределение	TT		Tt		tt	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
фактическое	31	51	21	34	9	15
Теоретическое	28	46	27	44	6	10
Статистики	(df=2, $\chi^2_{ст}=5,99$; $\chi^2_{ф}=2,65$; $p>0,05$)					

Таблица 3. Частоты генотипов по полиморфизмам *ApaI* и *TaqI* гена *VDR3*

Распределение	Количество наблюдений								
	AATT	AATt	AAtt	AaTT	AaTt	Aatt	aaTT	aaTt	aatt
Фактическое	1	7	10	29	14	0	0	0	0
Теоретическое	8	5	2	23	16	7	0	0	0
Статистики	df=8, $\chi^2_{ст}=26,12$; $\chi^2_{ф}=42,16$; $p < 0,001$								

ции – 33 %, 49 % и 18 % ($p>0,01$) [15], Турции – 35 %, 49 % и 16 % ($p>0,05$) [11] соответственно. В странах Южной и Восточной Азии ситуация иная: частоты генотипов TT, Tt и tt в Японии составляют 77 %, 22 % и 1 %, в Китае – 90 %, 10 %, 0 %, в Таиланде – 83 %, 17 % и 0 % соответственно, что статистически значимо отличается от распределения генотипов среди украинского населения ($p<0,001$) [15].

При условии, что полиморфные аллели исследуемых позиций не являются сцепленными, следует ожидать, что анализируемая выборка будет равновесной по всем независимым комбинациям. Однако анализ рядов распределения генотипов исследуемой группы показал значимую разницу между теоретически ожидаемыми и фактическими частотами (табл. 3).

Наблюдаемое отсутствие ряда генотипов связано с тем, что менее ожидаемые генотипы могут быть выявлены в выборке большего объема, например, генотип aatt может быть обнаружен в выборке от 775 человек.

Отмечается отклонение от равновесия в сторону изменения числа отдельных генотипов, например, увеличения числа лиц с генотипом AAtt. Аллели A и t в европейских популяциях связывают с меньшим ри-

ском развития остеопороза и более высокими показателями минеральной плотности костной ткани [6,16], хотя по данным исследований полиморфных вариантов гена *VDR3* в западной Украине среди населения и больных остеопорозом не обнаружено статистически значимой разницы между сравниваемыми группами [17]. В азиатских популяциях аллель A и генотип AA ассоциирован с периодонтитом, псориазом [5], а аллель T обладает онкопротекторным действием.

Анализ литературных данных показывает, что частоты аллелей и генотипов гена *VDR3* находятся в зависимости от этнических характеристик популяции и климато-географических параметров территории ее проживания. По мере удаления от экватора к полюсу в северном полушарии частота аллелей A и t и соответствующих комбинаций генотипов растет, что может быть связано с механизмами адаптации человека к географическим вариациям солнечной инсоляции и УФ излучения как селективного фактора в эволюции пигментации [18, 19].

Выводы

Информация о частотах аллелей и генотипов по исследуемому гену в харьковской популяции может быть использована для анализа ее структуры и происходящих

процесів, для виявлення асоціацій поліморфних варіантів гена *VDR3* с патологіями.

Список литературы

1. Спиричев В.Б. О биологических эффектах витамина D // Педиатрия. – 2011. – № 6. – С. 113–119.
2. Ahn J., Albanes D., Berndt S.I. et al. Vitamin D-related genes, serum vitamin D concentrations and prostate cancer risk // *Carcinogenesis*. – 2009. – № 30 (5). – P. 769–776.
3. Karami S., Brennan P., Rosenberg P. et al. Analysis of SNPs and Haplotypes in Vitamin D Pathway Genes and Renal Cancer Risk // *PLoS One*. – 2009. – № 4 (9). – e. 7013.
4. Ralston SH. The genetic of osteoporosis // *Bone*. – 1999. – № 25 (1). – P. 85–86.
5. Deng H., Liu F., Pan Y. et al. BsmI, TaqI, ApaI, and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor gene and periodontitis: a meta-analysis of 15 studies including 1338 cases and 1302 controls // *J. Clin. Periodontol.* – 2011. – № 38 (3). – P. 199–207.
6. Zintzaras E., Rodopoulou P., Koukoulis G. N. BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis // *Dis Markers*. – 2006. – № 22 (5–6). – P. 317–326.
7. Park B.-S., Park J.-S., Lee D.-Y. et al. Vitamin D Receptor Polymorphism is Associated with Psoriasis // *J. of Inv. Derm.* – 1999. – № 112. – P. 113–116.
8. Атраментова Л.О., Утєвська О.М. Статистичні методи в біології. – Х.: ХНУ ім. В.Н. Каразіна. – 2007. – 288 с.
9. Гнатейко Н.О., Яцкевич А.Я., Шелемех І.Я. Визначення генетичних маркерів остеогенезу у пацієнтів із вальгусною деформацією першого пальця стопи // *Acta Med. Leopoliensa*. – 2011. – Т. 17. – № 3. – С. 77–79.
10. Dayançac-Erden D., Karaduman A., Erdem-Yurter H. Polymorphisms of vitamin D receptor gene in Turkish familial psoriasis patients // *Arch. of Dermatological Research*. – 2007. – Vol. 299, № 10. – P. 487–491.
11. Gamze Bora, Behzat Uçkan, Didem Dayançac-Erden, Hayat Erdem-Yurter, Turgay Coşkun. Vitamin D receptor gene polymorphisms in Turkish children with vitamin D deficient rickets // *The Turkish Journal of Pediatrics*. – 2008. – № 50. – P. 30–33.
12. Hennig B.J., Parkhill J.M., Chapple I.L., Heasman P.A., Taylor J.J. Association of a vitamin D receptor gene polymorphism with localized early-onset

periodontal diseases // *Journal of Periodontology*. – 1999. – Vol. 70, № 9. – P. 1032–1038.

13. Бабенко С.А., Алифиров В.М., Орлова Ю.Ю., Пузырєв В.П. Связь аллельных вариантов гена *VDR* с рассеянным склерозом // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2008. – № 5. – С. 40–45.
14. Tajouri L., Ovcacic M., Curtain R. et al. Variation in The Vitamin D Receptor Gene is Associated With Multiple Sclerosis in an Australian Population // *Journal of Neurogenetics*. – 2005. – Vol. 19, № 1. – P. 25–38.
15. Hemant K Bid, Dhruva K Mishra, Rama D Mittal. Vitamin-D Receptor (VDR) Gene (Fok-I, Taq-I & Apa-I) Polymorphisms in Healthy Individuals from North Indian Population // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2005. – № 6. – P. 147–152.
16. Horst-Sikorska W., Wawrzyniak A., Celczyńska-Bajew L. et al. Polymorphism of VDR gene—the most effective molecular marker of osteoporotic bone fractures risk within postmenopausal women from Wielkopolska region of Poland // *Endokrynol Pol.* – 2009. – № 56 (3). – P. 233–239.
17. Гнатейко Н.О., Макух Г.В. Молекулярно-генетичний аналіз поліморфізму гена *VDR* у хворих із сповільненою консолідацією кісток та остеопорозом // *Acta Med. Leopoliensa*. – 2004. – Vol. 10, № 34. – P. 33–37.
18. Schlumpf M., Reichrath J., Lehmann B. et al. Fundamental questions to sun protection // *Dermatoendocrin.* – 2010. – № 2 (1). – P. 19–25.
19. Jablonski N.J., Chaplin G. Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2010. – № 11; 107 (Suppl. 2). – P. 8962–8968.

Представлена Л.Л. Лукаш
Поступила 20.05.2014

СТРУКТУРА НАСЕЛЕННЯ ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ПО ПОЛІМОРФНИМ ВАРІАНТАМ АРАІ ТА QI ГЕНУ *VDR3*

О.М. Федота, А.О. Снурникова

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4
e-mail: afedota@mail.ru

Мета. Вітамін D3 володіє широким діапазоном фундаментальних біологічних функцій, а ген рецептора до вітаміну D3 розглядається як предиктор ряду мультифакторіальних захворювань. Однак наведені в літературі результати тестування населення різних регіонів світу по гену *VDR3* неоднозначні, у зв'язку з чим

метою дослідження стало визначення частот алелів і генотипів поліморфних варіантів Apal і TaqI гена *VDR3* у населення Харківської області. **Методи.** На зразках ДНК 61 здорової людини досліджені одонуклеотидні поліморфізми 61888G>T (Apal) та 61968T>C (TaqI) гену *VDR3* серед мешканців Харківської області.

Результати. Частота алеля А склала 0,62, а – 0,38, Т – 0,68, т – 0,32; результати зіставні з даними по західноукраїнській та європейськими популяціями. Частоти генотипів AA, Aa, aa склали 25 %, 75 %, 0 %, схожі з даними по західноукраїнської популяції, але статистично значимо відрізняються від розподілу частот в європейських країнах. Надлишок гетерозигот і відсутність гомозигот за алелем а може свідчити про те, що локус rs7975232 є селективно значущим для досліджуваного населення. Частоти генотипів TT, Tt і tt склали 51 %, 34 % та 15 %, статистично значущих відмінностей від розподілу генотипів в західній Україні та Європі не відмічено. **Висновки.** Інформація про частоти алелів і генотипів з досліджуваного гену серед населення харківського регіону може бути використана для аналізу їх асоціацій з патологіями, структури населення та популяційних процесів.

Ключові слова: ген *VDR3*, поліморфні варіанти 61888G>T (Apal) та 61968T>C (TaqI), частоти генів та генотипів.

POPULACE STRUCTURE OF KHARKIV REGION ON POLYMORPHIC APAL AND TAQI VARIANTS OF THE *VDR3* GENE

A. M. Fedota, A. A. Snurnikova

V. N. Karazin Kharkiv National University
Ukraine, 61022, Kharkiv, Svobody Sq., 4
e-mail: afedota@mail.ru

Aim. Vitamin D has a wide range of fundamental biological functions, and gene for vitamin

D3 receptor is regarded as a predictor of a number of multifactorial diseases. However, the results of testing people in different regions of the world cited in literature concerning *VDR3* gene are ambiguous, therefore the purpose of the study was to determine the allele and genotype frequencies of polymorphic Apal and TaqI variants of *VDR3* gene in populace of Kharkiv region. **Methods.** DNA samples from 61 healthy human were studied for 61888G> T (Apal) and 61968T> C (TaqI) single nucleotide polymorphisms of *VDR3* gene in residents of Kharkiv region. **Results.** The frequency of allele A was 0.62, while that of a – 0.38, T – 0.68, t – 0.32; results are comparable with the data on Western-Ukrainian and European populations. The frequencies of AA, Aa, aa genotypes made up 25 %, 75 %, 0 %, similar to those reported for Western-Ukrainian population, but statistically significantly differ from the frequency distribution in European countries. Excess of heterozygotes and absence of homozygotes by a allele may be indicative of selective significance of rs7975232 locus among the studied populace. Genotype frequencies of TT, Tt and tt accounted for 51 %, 34 % and 15 %, statistically significant differences from the distribution of genotypes in the Western Ukraine and Europe were not observed. **Conclusions.** Information about the frequencies of alleles and genotypes for the studied gene in the populace of Kharkiv region can be used to analyze their association with abnormalities, populace structure and population processes.

Key words: *VDR3* gene, polymorphic variants 61888G>T (Apal) and 61968T>C (TaqI), the frequency of genes and genotypes.