

Изменчивость полиморфных вариантов генов факторов некроза опухоли и их рецепторов у представителей четырех этнических групп Сибирского региона*

Кучер А.Н.¹, Бабушкина Н.П.¹, Тарасенко Н.В.¹, Голубенко М.В.¹, Назаренко М.С.^{1,2}, Конева Л.А.¹, Еремина Е.Р.³, Пузырев В.П.^{1,2}

¹ – Учреждение РАМН НИИ медицинской генетики СО РАМН, 634050, г.Томск, наб. р. Ушайки, 10, факс (3822)513744, e-mail: valery.puzirev@medgenetics.ru

² – ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», 634050, г.Томск, Московский тракт, 2, факс (3822) 533309, e-mail: office@ssmu.net.ru

³ – Бурятский филиал НИИ медицинской генетики СО РАМН, 670042, г.Улан-Уда, просп. Строителей, 2а, e-mail: ereelrob@mail.ru

Приведены результаты изучения изменчивости пяти полиморфных вариантов, локализованных в генах *TNFA* (rs1800629), *TNFB* (*LTA*) (rs909253), *TNFRSF1A* (rs36188382) и *TNFRSF1B* (rs1061622, rs5746026), у представителей четырех этнических групп сибирского региона: русских (пришлое население), тувинцев, бурят и якутов (коренное монголоидное население). В исследованных группах делеция (rs36188382) в гене *TNFRSF1A* не выявлена; четыре других SNP являлись полиморфными, при этом регистрировались различия между изученными этническими группами по частотам аллелей и генотипов. Между русскими и коренными сибирскими этносами наименьшие различия по частотам аллелей показаны для двух полиморфных вариантов – rs1800629 гена *TNFA* и rs1061622 гена *TNFRSF1B* (между русскими и тувинцами также по rs909253 гена *TNFB*), наибольшие – по rs5746026 гена *TNFRSF1B*. Между монголоидными популяциями максимальные различия зарегистрированы по частотам аллелей rs1061622 в гене *TNFRSF1B*. В целом, по изученным полиморфным вариантам генов TNF и их рецепторов наибольший процент изменчивости приходится на внутрипопуляционный (внутриэтнический) уровень. Популяционно-специфический F_{ST} -индекс позволяет заключить, что этнические группы, относящиеся к разным расам, различаются между собой по уровню изменчивости rs909253 гена *TNFB* и rs5746026 гена *TNFRSF1B*. Специфика в распределении частот аллелей и генотипов исследованных генов у представителей разных этнотерриториальных групп населения предполагает наличие особенностей в структуре подверженности и распространенности в них различных мультифакториальных заболеваний, для которых гены факторов некроза опухоли и их рецепторов рассматриваются как кандидатные.

Ключевые слова: полиморфизм, гены TNF и их рецепторов, популяции, мультифакториальная патология

Введение

Развитие воспаления характерно для многих патологических состояний, и то, как будет протекать воспалительный процесс, во многом определяет течение и исход заболевания. Степень выраженности и длительность воспалительного процесса контролируется комплексом белковых молекул, среди которых ключевую роль играют факторы некроза опухоли (TNF) и их рецепторы. В регионе бр21.3 локализованы два гена, кодирующих белки суперсемейства TNF – *TNFA* и *TNFB* (*LTA*). Фактор некроза опухоли α (*TNFA*, ФНО α), кодируемый геном *TNFA*, является провоспалительным цитокином, который задействован в регуляции широкого спектра биологических процессов, таких, как пролиферация [11], дифференцировка [19] и апоптоз клеток [14], коагуляция [16], метаболизм липидов [8]. ФНО α секретируется главным образом макрофагами, хотя его способны продуцировать и другие типы клеток (например, Т- и В-лейкоциты). Нарботка ФНО α регулируется на

транскрипционном и посттранскрипционном уровнях [7]. В частности, известно, что аллель -308A, локализованный в промоторном регионе, связан с 6–7-кратным увеличением уровня транскрипции *TNFA* по сравнению с аллелем -308G [18]. В области локализации полиморфного варианта G-308A находится сайт связывания с активаторным белком-2 (AP-2), и эффективность связывания зависит как от аллеля по этому SNP, так и от типа клеток, в которых происходит этот процесс [18]. Вариант G-308A влияет также и на транскрипционную активность гена *TNFB*, локализованного в том же кластере.

Продукт гена *TNFB* – лимфотоксин α (*LTA*, *TNFB*) – экспрессируется в лимфоцитах (Т, В и NK (натуральных киллерах)) и является посредником воспалительных иммуностимулированных ответов, участвует в развитии первичного иммунитета и защите организма от вирусов, в формировании вторичных лимфатических органов в ходе онтогенеза, а также задействован в процессах апоптоза

* Работа выполнена при частичной поддержке гранта ФЦП «Кадры» по теме «Изучение плейотропных эффектов генов при различных функциональных состояниях организма человека» №01200961129 от 22.10.2009 г.

[13]. Кроме того, TNFB выступает в качестве регулятора ферментов контроля липидного метаболизма [12].

Эффекты ФНО α опосредуются двумя рецепторами, кодируемыми генами *TNFRSF1B* и *TNFRSF1A*, экспрессирующимися в большинстве типов клеток [6]. *TNFRSF1A* является рецептором для TNFA и TNFB, может активировать транскрипционный фактор NF- κ B, опосредует апоптоз и функционирует как регулятор воспаления [23]. Рецептор *TNFRSF1A* совместно с рецептором *TNFRSF1B* образует гетерокомплекс, который выступает посредником в связывании двух апоптотических супрессоров — с-IAP1 и с-IAP2, обладающих E3 убиквитин-лигазной активностью. Большинство метаболических эффектов TNFA реализуется через *TNFRSF1B*. Растворимая сывороточная форма этого рецептора (sTNF-R2), образуемая вследствие его гидролиза по аминокислоте Pro в 211-м положении [10], нейтрализует ФНО α при его высоких концентрациях, тогда как при низких — сохраняет его активность и помогает обособить данный цитокин у его мембранного рецептора с целью обеспечения длительного эффекта [5]. В межклеточном домене *TNFRSF1B*, ответственном за расщепление и образование растворимой формы белка, известна аминокислотная замена в положении 196 (Met196Arg), которая обусловлена транзицией T676G (rs1061622) в экзоне 6 гена *TNFRSF1B*.

Учитывая широкий спектр биологических процессов, в регуляцию которых вовлечены продукты вышеприведенных генов, ожидаемым является наличие вклада аллельных вариантов генов в формирование предрасположенности к различным патологическим состояниям сердечно-сосудистой, эндокринной, бронхолегочной, нервной систем, онкопатологии и т.д. В настоящее время только по гену *TNFA* в базе данных NCBI приведены ссылки более чем на 1,5 тыс. публикаций, посвященных этой проблематике [23]; в базе данных HuGE-

Net по *TNFA* приводится также более 1,5 тыс. ссылок. Другие обсуждаемые в настоящем исследовании гены изучены в меньшей степени: для *LTA*, *TNFRSF1A* и *TNFRSF1B* приводится 319, 84 и 114 ссылок соответственно [21].

В настоящем сообщении представлена информация об изменчивости нескольких функционально значимых SNP в генах факторов некроза опухоли и их рецепторов у представителей четырех групп сибирского региона.

Материалы и методы

Изучена изменчивость пяти полиморфных вариантов, локализованных в генах *TNFB* (*LTA*) (A252G, rs909253), *TNFA* (G-308A, rs1800629), *TNFRSF1A* (rs36188382) и *TNFRSF1B* (Met196Arg, rs1061622; Lys232Gly, rs5746026), у представителей четырех этнических групп сибирского региона: русских (пришлое население), тувинцев, бурят и якутов (коренное монголоидное население), в каждой группе обследовано 96 чел. ДНК выделена из лимфоцитов периферической крови фенол-хлороформной экстракцией по стандартной методике [3]. В работе использованы образцы из банка ДНК НИИ медицинской генетики СО РАМН.

Изменчивость исследованных маркеров изучали методом ПЦР-ПДРФ-анализа. Структура праймеров, температура отжига и паттерн рестрикции представлены в табл. 1. Условия ПЦР включали в себя первичную денатурацию (94–95°C), затем следовали 30–35 циклов, состоящих из денатурации (94°C), отжига праймеров при специфической для каждого локуса температуре (табл. 1), элонгации цепи (72°C); реакцию завершала финальная элонгация (72°C). Продукты амплификации подвергали гидролизу специфической эндонуклеазой рестрикции, согласно протоколу фирмы-производителя; продукты рестрикции фракционировали в 3%-ном агарозном геле, или в 10%-ном полиакриламидном геле (19:1).

Таблица 1

Структура праймеров, параметры ПЦР и рестрикции для определения генотипов по исследованным генным маркерам

Ген	Полиморфизм	Локализация в гене	Последовательность праймеров	Температура отжига праймеров, °C	Метод детекции	Продукты гидролиза, п.н.	Литературный источник
<i>TNFRSF1A</i> 12p13.2	Rs36188382 (del)	3'-UTR	F: 5'- TGGTTCGTCCTGAGCCTTT-3' R: 5'- CAGGAGTGCCAAGTTTCTAT-3'	60	Del	ins [TTTTTT]: 113 del [TTTTTT]: 108	*
<i>TNFB (LTA)</i> 6p21.3	A252G rs909253	Интрон 1	F: 5'- CCGTGCTTCGTGCTTTGGACTA-3' R: 5'- AGAGGGGTGGATGCTTGGGTTT-3'	61	Bsp19I (NcoI)	A: 782 G: 586+196	[15]
<i>TNFA</i> 6p21.3	G-308A rs1800629	5'-UTR	F: 5'- AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3' R: 5'- TCCTCCCTGCTCCGATTCCG-3'	57	-Bsp19I (NcoI)	A: 107 G: 87+20	[17]
<i>TNFRSF1B</i> 1p36.3-p36.2	T676G Met196Arg rs1061622	Экзон 6	F: 5'- CCGTGAATGAGCCAG-3' R: 5'- CAGAAGGAGTGAATGAATGAG-3'	61	-NlaIII (Hsp92II)	344 235+109	[9]
	A783G Lys232Gly rs5746026	Экзон 6	F: 5'- CTCCTCCTCCAGCTGTAACG-3' R: 5'- AAGCAGTCTCACTGCCACCT-3'	60	+Hpy188III	396 244+152	**

Примечание. Для двух локусов, последовательности праймеров исследуемых областей генов подбирались с применением: * — программы Vector NTI [22]; ** — программы Primer 3 input [20]

Статистическую обработку проводили с использованием стандартных подходов, используемых при поведенческой популяционно-генетических исследований, как описано ранее [1, 2].

Результаты и обсуждение

TNFRSF1A. Во всех изученных этнических группах не было выявлено 5-нуклеотидной делеции (rs336188382) в гене *TNFRSF1A*. В базе данных NCBI отмечается наличие такого полиморфного варианта, однако нет сведений о его популяционной распространенности. Известно, что в ходе выполнения проекта «Геном человека» было выявлено большое количество новых полиморфных вариантов, для которых в настоящее время нет информации ни о популяционной распространенности, ни о функциональной значимости. Изучен-

ный вариант rs336188382 гена *TNFRSF1A* локализован в 3'-UTR, что предполагает возможность его участия в регуляторных процессах. Однако, поскольку у представителей четырех этнических групп (всего изучено около 400 образцов ДНК) эта делеция выявлена не была, можно предположить, что она либо является мутацией, либо встречается в популяциях с крайне низкой частотой.

Другие изученные SNP в генах *TNFB (LTA)*, *TNFA* и *TNFRSF1* характеризовались полиморфным состоянием. Отклонения от равновесия Харди–Вайнберга зарегистрировано только у русских для rs1800629 гена *TNFA* (табл. 2) вследствие недостатка гетерозигот (табл. 3).

TNFB (LTA). Высокий уровень и наблюдаемой, и ожидаемой гетерозиготности зарегистрирован во всех изученных этнических группах по rs909253 гена *TNFB (LTA)* (табл. 3), но между сравниваемыми группами ре-

Наблюдаемые частоты генотипов изученных полиморфизмов генов *TNFA*, *TNFB* и *TNFRSF1B* в обследованных этнических группах

Таблица 2

Ген	SNP	Этническая группа	Частоты генотипов, %			χ^2 (d.f.=1) G (d.f.)	p
			AA	AG	GG		
<i>TNFB (LTA)</i>	A252G rs909253	Русские	60,41	30,21	9,38	3,21	n.s.
		Якуты	14,58	57,29	28,13	2,69	n.s.
		Тувинцы	43,75	46,88	9,38	0,38	n.s.
		Буряты	39,58	50,00	10,42	0,83	n.s.
		$G_{H(4)}$ -тест (d.f.)	53,05 (6); p<0,001				
	$G_{H(3)}$ -тест (d.f.)	30,18 (4); p<0,001					
<i>TNFA</i>	G-308A rs1800629	Русские	76,04	18,75	5,21	5,88	<0,025
		Якуты	67,71	30,21	2,08	0,36	n.s.
		Тувинцы	83,33	16,67	0	0,79	n.s.
		Буряты	80,21	19,79	0	1,16	n.s.
		$G_{H(4)}$ -тест (d.f.)	7,28 (3); n.s.				
	$G_{H(3)}$ -тест (d.f.)	7,24 (2); p<0,05					
<i>TNFRSF1B</i>	T676G rs1061622	Русские	60,42	37,50	2,08	G=1,73 (d.f.=0,96)	n.s.
		Якуты	70,83	25,13	1,04	G=0,82 (d.f.=0,91)	n.s.
		Тувинцы	47,92	45,83	6,25	G=1,14 (d.f.=0,99)	n.s.
		Буряты	67,71	30,21	2,08	G=0,34 (d.f.=0,94)	n.s.
		$G_{H(4)}$ -тест (d.f.)	14,93 (6); p<0,05				
	$G_{H(3)}$ -тест (d.f.)	14,45 (4); p<0,01					
	A783G rs5746026	Русские	94,79	5,21	0	G=0,01 (d.f.=0,21)	n.s.
		Якуты	60,42	37,50	2,08	G=1,73 (d.f.=0,96)	n.s.
		Тувинцы	72,92	25,00	2,08	G=0,00 (d.f.=0,91)	n.s.
		Буряты	81,25	17,71	1,04	G=0,00 (d.f.=0,80)	n.s.
$G_{H(4)}$ -тест (d.f.)		37,98 (3); p<0,001					
$G_{H(3)}$ -тест (d.f.)	10,56 (4); p<0,05						

Примечание. Для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга для высокополиморфных систем использован χ^2 -тест (d.f.=1); для низкополиморфных систем – G-тест; d.f. – число степеней свободы; $G_{H(4)}$ и $G_{H(3)}$ – показатели гетерогенности по частотам генотипов при сравнении всех четырех изученных этнических групп и этнических групп, относящихся к монголоидной расе, соответственно.

гистрировались различия по распределению генотипов (табл. 2), которые выявлялись при сравнении не только русских с монголоидными популяциями, но и последних между собой. Среди монголоидных этносов более близкими между собой по генотипической структуре по указанному полиморфному варианту оказались тувинцы и буряты. Якуты, по сравнению со всеми другими изученными этническими группами, характеризовались максимальной частотой гетерозигот AG, более низкой (на 28—45%) частотой встречаемости генотипа AA и более высокой (примерно в 3 раза выше) — генотипа GG (табл. 2). Для русских, в отличие от других этнических групп, характерна самая высокая частота гомозиготного генотипа AA. Среди всех привлеченных к анализу в на-

стоящем исследовании SNP по rs909253 гена *TNFB* зарегистрированы наибольшие различия по частотам аллелей между сравниваемыми группами: между якутами и русскими разница в частоте аллелей превышала 30%, между изученными монголоидными популяциями — 20% (табл. 4).

TNFA. Как и для описанного выше SNP в гене *TNFB*, по частотам генотипов полиморфного варианта rs1800629 гена *TNFA* наиболее близки между собой оказались тувинцы и буряты; от всех изученных групп существенно отличались якуты (чаще регистрировались лица с гетерозиготным генотипом GA). Частоты генотипов по данному локусу у русских занимали промежуточное положение между аналогичными значениями, заре-

Таблица 3

Генетическое разнообразие изученных локусов в обследованных этнических группах

Ген	SNP	Этническая группа	Гетерозиготность		D
			Наблюдаемая	Ожидаемая	
<i>TNFB (LTA)</i>	A252G rs909253	Русские	0,3021±0,0469	0,3697±0,0316	-0,1830±0,0946
		Якуты	0,5729±0,0505	0,4908±0,0103	+0,1672±0,0856
		Тувинцы	0,4688±0,0509	0,4409±0,0234	-0,0631±0,0973
		Буряты	0,5000±0,0510	0,4575±0,0203	+0,0930±0,0942
<i>TNFA</i>	G-308A rs1800629	Русские	0,1875±0,0398	0,2491±0,0359	-0,2474±0,1129
		Якуты	0,3021±0,0469	0,2847±0,0356	+0,0612±0,1046
		Тувинцы	0,1667±0,0380	0,1528±0,0331	+0,0909±0,1268
		Буряты	0,1979±0,0407	0,1783±0,0344	+0,1098±0,1233
<i>TNFRSF1B</i>	T676G rs.1061622	Русские	0,3750±0,0494	0,3299±0,0341	+0,1368±0,1006
		Якуты	0,2813±0,0459	0,2565±0,0359	+0,0967±0,1086
		Тувинцы	0,4583±0,0509	0,4132±0,0274	+0,1092±0,0952
		Буряты	0,3021±0,0469	0,2847±0,0356	+0,0612±0,1046
	A783G rs5746026	Русские	0,0521±0,0227	0,0507±0,0217	+0,0267±0,1391
		Якуты	0,3750±0,0494	0,3299±0,0341	+0,1368±0,1006
		Тувинцы	0,2500±0,0442	0,2491±0,0359	+0,0035±0,1024
		Буряты	0,1771±0,0396	0,1783±0,0344	-0,0070±0,1039

Примечание. s.e. — ошибка среднего значения; D — относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой

Таблица 4

Распределение частот аллелей изученных полиморфных вариантов генов *TNFA*, *TNFB* и *TNFRSF1B* в различных популяциях

Ген	SNP	Ал- лель	Обследованные этнические группы (собственные данные)				Данные NCBI [23]					
			Русские	Якуты	Тувинцы	Буряты	Все выборки		Европеоиды		Монголоиды	
							N	min-max	N	min-max	N	min-max
<i>TNFB (LTA)</i>	A252G rs909253	A	75,52	43,23	67,19	64,58	29	37,5-79,2	4	64,2-71,4	7	54,4-63,7
<i>TNFA</i>	G-308A rs1800629	G	85,42	82,81	91,67	90,10	44	78,2-97,8	7	78,2-81,8	13	95,0-97,8
<i>TNFRSF1B</i>	T676G rs.1061622	T	79,19	84,90	70,83	82,81	26	74,6-88,5	7	74,6-81,2	8	77,1-85,0
	A783G rs5746026	G	97,40	79,17	85,42	90,10	15	95,5-100,0	4	95,5-100,0	5	95,7-100,0

Примечание. N — число изученных групп населения

гистрированными у якутов и двух других монголоидных этносов (табл. 2). Это определило то, что между монголоидными группами выявляются статистически значимые различия по генотипической структуре, но таковые отсутствуют при сравнении всех исследованных групп — тест на гетерогенность по частотам генотипов не достиг критических значений. Якуты характеризовались самым высоким среди изученных популяций уровнем разнообразия по данному SNP (табл. 3) и минимальной частотой встречаемости аллеля G (табл. 4). Следует подчеркнуть, что гены *TNFB* и *TNFA* тесно сцеплены между собой, поэтому определенные общие закономерности в распределении частот генотипов по изученным SNP у представителей исследованных этносов могут быть обусловлены именно этим фактом.

TNFRSF1B. В гене *TNFRSF1B* изучено два полиморфных варианта — rs1061622 и rs 5746026, локализованных в экзоне 6 и приводящих к заменам аминокислот Met196Arg и Lys232Cly соответственно. Для обоих SNP характерно преобладание гомозиготного генотипа по одному аллельному варианту (TT — 47,92—70,83 и GG — 60,42—94,79 для rs1061622 и rs 5746026 соответственно) и низкая частота встречаемости гомозигот по второму аллельному варианту (табл. 2). Однако наблюдаемые распределения генотипов по данным SNP различаются как между всеми изученными сибирскими популяциями, так и между монголоидными этносами (табл. 2), что и определило различия между ними по уровню генетического разнообразия (табл. 3). Для тувинцев по rs1061622 гена *TNFRSF1B* характерна высокая частота носителей гетерозиготного генотипа GT и, соответственно, максимальные значения показателей гетерозиготности (наблюдаемая — 0,4583; ожидаемая — 0,4132). Наименьшие величины наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности зарегистрированы у якутов и бурят (табл. 3). Между монголоидными популяциями в настоящем исследовании показаны максимальные различия по распределению генотипов этого SNP, что и определило широкий размах изменчивости по частотам встречаемости аллелей (14%) в изученных популяциях (табл. 4).

По rs5746026 гена *TNFRSF1B* русские оказались (табл. 2—4) более удаленными от других изученных этносов по генотипической структуре и по частотам аллельных вариантов: показаны максимальные значения частот генотипа GG и аллеля G, минимальный уровень гетерозиготности, не зарегистрировано лиц с гомозиготным генотипом AA. Самый высокий уровень гетерозиготности зарегистрирован у якутов, минимальный — у бурят (наблюдаемая гетерозиготность примерно в 2 раза ниже, чем у якутов) (табл. 3). Различия в частотах аллелей rs5746026 гена *TNFRSF1B* между изученными монголоидными группами превышают 10% (табл. 4).

Для сравнения полученных оценок изменчивости SNP генов *TNFB* (*LTA*), *TNFA* и *TNFRSF1* в сибирских популяциях привлечены сведения из NCBI (табл. 4). В этой базе приводятся данные многочисленных иссле-

дований, охватывающих различные регионы мира [23]. Так, например, по rs909253 гена *TNFB*, база данных SNP NCBI содержит информацию о частотах аллелей и генотипов в 29 выборках (более 2200 образцов ДНК), среди которых 4 группы представлены европеоидами и 7 — монголоидами (табл. 4).

Согласно мировым данным (табл. 4), для rs909253 гена *TNFB* характерен больший размах изменчивости по частотам аллелей (более 40%), чем для rs1800629 гена *TNFA* (около 20%). Полученные в ходе выполнения настоящего исследования данные по частотам аллелей SNP, локализованных в генах *TNFB* и *TNFA*, в целом находятся в границах общемировых значений, хотя и выходят за рамки величин, приведенных в базе данных NCBI для европеоидов и монголоидов соответственно. Интересно, что полученные для тувинцев и бурят значения частот аллелей по изученным SNP данных генов сопоставимы с таковыми для европеоидных групп населения мира. В то же время, разброс (минимальные и максимальные величины) частот аллелей по rs1800629 в гене *TNFA* у монголоидов и европеоидов, представленный в базе данных NCBI [23], не перекрывается. Однако для популяций Сибири (и европеоидных, и, особенно, монголоидных — всего 8 этнотерриториальных групп), как было показано ранее [4], характерен больший, чем отражено в NCBI, разброс изменчивости по частотам аллелей указанного SNP гена *TNFA* (табл. 4). Поэтому, несмотря на то, что полученные в ходе настоящего исследования оценки частот аллельных вариантов rs1800629 гена *TNFA* для русского населения и коренных монголоидных народностей Сибири выходят за границы значений, приведенных в NCBI для европеоидных и монголоидных популяций мира (табл. 4), они согласуются с данными, полученными ранее для сибирских популяций [4].

Что касается rs1061622 гена *TNFRSF1B*, то среди изученных монголоидных этнических групп только у тувинцев частоты аллелей выходят за пределы оценок, показанных как для монголоидных, так и всех других изученных популяций мира; зарегистрированные частоты аллелей у русских согласуются с известными для других европеоидных популяций мира значениями (табл. 4). По генетическому разнообразию rs5746026 гена *TNFRSF1B* русские также близки к другим европеоидам мира, тогда как исследованные сибирские монголоидные популяции отличаются от других монголоидных групп населения мира большим разнообразием (табл. 4).

По генетической структуре изученных полиморфных вариантов генов суперсемейства *TNF* и их рецепторов сибирские популяции статистически значимо различаются между собой, что показано как при сравнении совокупности изученных этнических групп, так и при парных сравнениях (табл. 5). Все изученные SNP вносят существенный вклад в величину тотальной гетерогенности по частотам аллелей между сибирскими этническими группами. Относительно небольшие различия по частотам аллелей между русскими и коренными сибир-

скими этносами показаны для двух полиморфных вариантов: rs1800629 гена *TNFA* и rs1061622 гена *TNFRSF1B* (между русскими и тувинцами также по rs909253 гена *TNFB*), наибольшие различия — по rs5746026 гена *TNFRSF1B*.

Максимальный вклад в величину тотальной гетерогенности по частотам аллелей изученных SNP между бурятами и тувинцами вносит только один локус — замена Met196Arg (rs1061622) в гене *TNFRSF1B*. Между двумя этими этническими группами зарегистрированы минимальные генетические расстояния, оцененные как по

методу Nei, так и на основании попарных сравнений популяционно-специфических F_{ST} -индексов (табл. 5). Эти две (из четырех исследованных) этнические группы проживают на сопредельных территориях. Поэтому не исключено, что сходство по генетическому разнообразию, оцененному по четырем SNP в генах *TNFA*, *TNFRSF1B* и *TNFB*, может быть следствием их адаптации к сходной среде обитания.

В качестве подтверждения данного предположения может выступить тот факт, что и от бурят, и от тувинцев якуты значительно удалены: генетические дистанции

Таблица 5

Гетерогенность (χ^2) изученных этнических групп по частотам аллельных вариантов генов *TNFA*, *TNFB* и *TNFRSF1B*

Локус	Сравниваемые этнические группы													
	Русские — буряты — тувинцы — якуты		Русские — буряты		Русские — тувинцы		Русские — якуты		Буряты — тувинцы		Буряты — якуты		Тувинцы — якуты	
	χ^2 (d.f.=3)	p	χ^2 (d.f.=1)	p	χ^2 (d.f.=1)	p	χ^2 (d.f.=1)	p	χ^2 (d.f.=1)	p	χ^2 (d.f.=1)	p	χ^2 (d.f.=1)	p
<i>TNFB</i> (LTA), rs909253	46,12	0,001	5,47	0,02	3,24	n.s.	42,92	0,001	0,29	n.s.	17,75	0,001	22,57	0,001
<i>TNFA</i> , rs1800629	8,80	0,01	1,94	n.s.	3,69	n.s.	0,48	n.s.	0,28	n.s.	4,36	0,05	6,84	0,01
<i>TNFRSF1B</i> , rs1061622	12,86	0,001	0,82	n.s.	3,54	n.s.	2,12	n.s.	7,77	0,01	0,31	n.s.	11,16	0,001
<i>TNFRSF1B</i> , rs5746026	39,33	0,001	9,23	0,01	19,63	0,001	36,35	0,001	1,93	n.s.	8,95	0,01	2,56	n.s.
Суммарно	107,10 (d.f.=12)	0,001	17,45 (d.f.=4)	0,01	30,11 (d.f.=4)	0,001	81,88 (d.f.=4)	0,001	10,27 (d.f.=4)	0,05	31,36 (d.f.=4)	0,001	43,12 (d.f.=4)	0,001
r_1			0,0069		0,0103		0,0494		0,0058		0,0220		0,0334	
r_2			0,0143*		0,0233*		0,1023*		0,0097*		0,0440*		0,0596*	

Примечание. d.f. — число степеней свободы; p — достигнутый уровень значимости; n.s. — нет различий; r_1 и r_2 — генетические дистанции, оцененные по Nei, и на основании попарных сравнений по F_{ST} (* — различия статистически значимы) соответственно

Таблица 6

Результаты анализа полокусной изменчивости изученных полиморфных вариантов генов *TNFA*, *TNFB* и *TNFRSF1B* по методу AMOVA

Локус	Полокусные различия по методу AMOVA						Популяционно-специфический F_{ST} индекс на полиморфный локус				G_{st}
	Между популяциями		Внутри популяций		Индекс фиксации (F_{ST})		Абсолютные значения (относительный уровень по сравнению со средним F_{ST})				
	Va	% изменчивости	Vb	% изменчивости	Среднее значение	p	Русские	Якуты	Тувинцы	Буряты	
<i>TNFB</i> (LTA), rs909253	0,0178	7,44	0,2210	92,56	0,0744	0,0000	0,0751 (1,032)	0,0738 (-0,753)	0,0743 (-0,017)	0,0742 (-0,261)	0,0143
<i>TNFA</i> , rs1800629	0,0017	1,17	0,1076	98,83	0,0117	0,0225	0,0109 (-7,216)	0,0100 (-14,523)	0,0134 (14,395)	0,0126 (7,344)	0,0051
<i>TNFRSF1B</i> , rs1061622	0,0030	1,83	0,1614	98,17	0,0183	0,0020	0,0181 (-0,769)	0,0193 (5,631)	0,0168 (-8,034)	0,0189 (3,172)	0,0022
<i>TNFRSF1B</i> , rs5746026	0,0054	5,04	0,1015	94,96	0,0504	0,0000	0,0541 (7,355)	0,0472 (-6,215)	0,0492 (-2,291)	0,0509 (1,151)	0,0227

Примечание. Va — межпопуляционная дисперсия; Vb — внутрипопуляционная дисперсия; p — достигнутый уровень значимости; G_{st} — коэффициент генной дифференциации

(табл. 5) между якутами и данными этническими группами (якуты — тувинцы $r_1=0,0334$; $r_2=0,0596$; якуты — буряты — $r_1=0,0220$; $r_2=0,0440$) практически на порядок выше, чем между тувинцами и бурятами ($r_1=0,0058$; $r_2=0,0097$). Интересно, что, согласно полученным оценкам генетических дистанций по изученным полиморфным вариантам (r_1 и r_2), буряты и тувинцы оказались более удалены от якутов, чем от русских (табл. 5).

При сравнении якутов с коренными этническими группами Сибири показано, что в тотальную величину гетерогенности по частотам аллельных вариантов существенный вклад вносят по три из четырех изученных SNP: при сравнении с тувинцами — rs909253 гена *TNFB*, rs1800629 гена *TNFA*; rs1061622 гена *TNFRSF1B*; при сравнении с бурятами — rs909253 гена *TNFB*, rs1800629 гена *TNFA*; rs5746026 гена *TNFRSF1B* (табл. 5).

В целом по изученным полиморфным вариантам генов суперсемейства TNF и их рецепторов наибольший процент изменчивости приходится на внутривнутриэтнический (внутриэтнический) уровень — от 92,56% для rs909253 гена *TNFB* до 98,83% для rs1800629 гена *TNFA*; коэффициент генной дифференциации G_{st} для указанных локусов равен соответственно 0,0143 и 0,0051 (табл. 6), что, в целом, подтверждает результаты расчетов в статистике AMOVA. Согласно величинам популяционно-специфического F_{ST} -индекса (сопоставление направленности отклонений значений популяционно-специфического F_{ST} -индекса от индекса фиксации, рассчитанного для совокупности изученных популяций (табл. 6)), можно заключить, что характер изменчивости по rs909253 гена *TNFB* и rs5746026 гена *TNFRSF1B* определяется расовой принадлежностью изученных этнических групп.

В предыдущих сообщениях была представлена информация по изменчивости у русских, тувинцев, бурят и якутов полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов [1], генов подверженности к сердечно-сосудистой патологии [2]. Интересным представляется тот факт, что исследованные этносы, в зависимости от того, какие маркерные системы использовались для расчета генетических дистанций, показывают неоднозначную удаленность друг от друга. Так, если рассмотреть в совокупности три маркерные системы, а именно гены интерлейкинов и их рецепторов («маркеры 1», [1]), гены подверженности к сердечно-сосудистой патологии («маркеры 2», [2]), гены факторов некроза опухоли и их рецепторов («маркеры 3», настоящее исследование), то получается следующая картина. По «маркерам 1» русские наиболее удалены от бурят, а по «маркерам 2» и «3» — от якутов; в то же время ближе всего русские по «маркерам 1» и «2» — с тувинцами, а по «маркерам 3» — с бурятами. Среди монголоидных групп по «маркерам 1» и «2» наиболее удалены тувинцы от бурят, а по «маркерам 3» — от якутов. Наиболее близки между собой оказались: по «маркерам 1» — буряты и якуты (различия между ними статистически не значимы), по «маркерам 2» —

тувинцы и якуты (различия недостоверны), по «маркерам 3» — тувинцы и буряты (различия статистически значимы).

Таким образом, полученные данные по изменчивости полиморфных вариантов различных маркерных систем еще раз свидетельствуют о том, что при проведении генетико-эпидемиологических и геногеографических исследований необходимо изучать как можно более широкую панель SNP в генах подверженности мультифакториальной патологии в различных этнических группах, даже в случае их близкой географической локализации или общности происхождения. Специфика в распределении частот аллелей и генотипов исследованных генов у представителей разных этнотерриториальных групп населения предполагает наличие особенностей в структуре подверженности и распространенности в них различных мультифакториальных заболеваний, для которых гены факторов некроза опухоли и их рецепторов рассматриваются как кандидатные.

Список литературы

1. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов у представителей четырех этнических групп Сибирского региона (принята к печати).
2. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Маркова В.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов-кандидатов заболеваний сердечно-сосудистой системы у представителей четырех этнических групп сибирского региона // Медицинская генетика. — 2010. — Т. 9, №5. — С. 24—34.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. — М.: Мир, 1984. — 480 с.
4. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Кучер А.Н. Генетическое разнообразие народонаселения и болезни человека. — Томск: Печатная мануфактура, 2007. — 320 с.
5. Aderka D., Engelmann H., Maor Y. et al. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptor // J. Exp. Med. — 1992. — Vol. 175. — P. 323—329.
6. Bazzoni F., Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families // N. Engl. J. Med. — 1996. — Vol. 334. — P. 1717—1725.
7. Beutler B., Cerami A. The biology of cachectin/TNF — a primary mediator of the host response // Annu. Rev. Immunol. — 1989. — Vol. 7. — P. 625—655.
8. Fawcett R.L., Waechter A.S., Williams L.B. et al. Tumor Necrosis Factor- α Inhibits Leptin Production in Subcutaneous and Omental Adipocytes from Morbidly Obese Humans // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2000. — Vol. 85. — P. 530—535.
9. Glenn C.L., Wang W.Y., Benjafeld A.V., Morris B.J. Linkage and association of tumor necrosis factor receptor 2 locus with hypertension, hypercholesterolemia and plasma shed receptor // Hum. Mol. Genet. — 2000. — Vol. 9. — P. 1943—1949.
10. Herman Ch., Chernajovsky Y. Mutation of Proline 211 Reduces Shedding of the Human p75 TNF Receptor // J. Immunol. — 1998. — Vol. 160. — P. 2478—2487.
11. Iwabe T., Harada T., Tsudo T. et al. Tumor Necrosis Factor- α Promotes Proliferation of Endometriotic Stromal Cells by Inducing Interleukin-8 Gene and Protein Expression // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2000. — Vol. 85. — P. 824—829.
12. Lo J.C., Wang Y., Tumanov A.V., Bamji M., Yao Z., Reardon C.A., Getz G.S., Fu Y.-X. Lymphotoxin beta receptor-depen-

dent control of lipid homeostasis // *Science*. — 2007. — Vol. 316. — P. 285—288.

13. Lund F.E., Partida-Sanchez S., Lee B.O., Kusser K.L., Hartson L., Hogan R.J., Woodland D.L., Randall T.D. Lymphotoxin-alpha-deficient mice make delayed, but effective, T and B cell responses to influenza // *J. Immun.* — 2002. — Vol. 169. — P. 5236—5243.

14. Pentikainen V., Erkkila K., Suomalainen L. TNF α Down-Regulates the Fas Ligand and Inhibits Germ Cell Apoptosis in the Human Testis // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2001. — Vol. 86. — P. 4480—4488.

15. Stuber F., Petersen M., Bokelmann F., Schade U. A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations and outcome of patients with severe sepsis // *Crit. Care Med.* — 1996. — Vol. 24. — P. 381—384.

16. Van der Poll T., Jansen P.M., Van Zee K.J. et al. Tumor necrosis factor-alpha induces activation of coagulation and fibrinolysis

in baboons through an exclusive effect on the p55 receptor // *Blood*. — 1996. — Vol. 88. — P. 922—927.

17. Wilson A.G., di Giovine F.S., Blakemore A.I., Duff G.W. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product // *Hum. Mol. Genet.* — 1992. — Vol. 1, №5. — P. 353.

18. Wilson A.G., Symons J.A., McDowell T.L. et al. Effects of a polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation // *PNAS*. — 1997. — Vol. 94. — P. 3195—3199.

19. Xu H., Sethi J.K., Hotamisligil G.S. Transmembrane Tumor Necrosis Factor (TNF)- α Inhibits Adipocyte Differentiation by Selectively Activating TNF Receptor 1 // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 26287—26295.

20. <http://frodo.wi.mit.edu/primer3>

21. <http://www.hugenavigator.net>

22. <http://www.informaxinc.com>

23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Genetic variability in the genes of tumor necrosis factors and their receptors in four ethnic groups from Siberia

Kucher A.N.¹, Babushkina N.P.¹, Tarasenko N.V.¹, Golubenko M.V.¹, Nazarenko M.S.^{1,2}, Koneva L.A.¹, Eremina E.R.³, Puzyrev V.P.^{1,2}

¹ — Research Institute of Medical Genetics of the Tomsk Scientific Center SD RAMS, Ushaika Embankment, 10, Tomsk, 634050, Russia, fax: (3822)513744, e-mail: valery.puzyrev@medgenetics.ru

² — Siberian State Medical University, Moscovski Trakt, 2, Tomsk, 634050, Russia, fax: (3822) 533309, e-mail: office@ssmu.net.ru

³ — Buryat branch of Research Institute of Medical Genetics of the SD RAMS, Stroiteley Avenue, 2a, Ulan-Ude, 670042, e-mail: ereelrob@mail.ru

Results of the study on polymorphisms in genes of *TNFA* (rs1800629), *TNFB* (*LTA*) (rs909253), *TNFRSF1A* (rs36188382) and *TNFRSF1B* (rs1061622, rs5746026) in four ethnic groups from the Siberian region: Russians (newly arrived population), Tuvinians, Buryats and Yakuts (native populations) are presented. The deletion (rs36188382) in *TNFRSF1A* gene was not detected in all groups have been examined. Four other SNPs appeared to be polymorphic: differences in allele and genotype frequencies have been revealed between all studied ethnic groups. The low level of allele frequencies heterogeneity was registered between Russians and native Siberian populations as indicated by two polymorphic variants — rs1800629 (*TNFA*) and rs1061622 (*TNFRSF1B*), as well as for rs909253 (*TNFB*) between Russians and Tuvinians. The most notable differences in allele frequencies were shown for rs5746026 in *TNFRSF1B* gene. When analyzed Mongoloid populations, the highest differences were detected in genotype distribution for rs1061622 in *TNFRSF1B* gene. Between population genetic distances calculated over all SNPs showed a considerable remoteness of Mongoloid populations inside the group. No differences in allele frequency for rs1061622 in *TNFRSF1B* gene between Yakuts and Buryats, and for rs5746026 at the same gene were detected between Yakuts and Tuvinians. Generally, the highest percent in genetic variability of studied polymorphisms in *TNFA*, *TNFB* and their receptors genes was detected in intra-population (intra-ethnic) level. The population specific F_{ST} s indicate that variability character was related to racial extrusion as revealed by rs909253 in *TNFB* gene and rs5746026 in *TNFRSF1B* gene of the ethnic groups being examined. Allele and genotypes frequency distribution detected in representatives of different ethnic groups assumes the specificity in the structure of common diseases susceptibility and their prevalences in different populations.

Key words: polymorphisms, TNF genes and their receptors, populations, common diseases