

К.Д. Невлева, Т.А. Байрова, С.И. Колесников, О.В. Калюжная

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА 2756A>G ГЕНА МЕТИОНИНСИНТАЗЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (Иркутск)*

Цель: исследовать частоты генотипов и аллелей полиморфизма 2756A>G гена метионинсинтазы (MTR) в русской и бурятской популяциях Восточной Сибири. Использовалась база ДНК крови детей и подростков русской и бурятской национальности. Генотипирование проводилось стандартным ПЦР-методом. Частота G-аллеля в русской популяции – 25,7 %, в бурятской – 13,2 %. Выявлены значимые различия распространенности генотипов и аллелей полиморфизма между исследуемыми группами ($p = 0,051$; $p = 0,032$)

Ключевые слова: гомоцистеин, метионинсинтаза (MTR), мультифакториальные заболевания, полиморфный локус 2756A>G, фолатный цикл

PREVALENCE OF 2756A>G POLYMORPHISM OF METHIONINE SYNTHASE GENE IN POPULATIONS OF EASTERN SIBERIA

K.D. Ievleva, T.A. Bairova, S.I. Kolesnikov, O.V. Kalyuzhnaya

Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, Irkutsk

This aim of the study was to research the prevalence of genotypes and alleles of 2756A>G polymorphism of gene of methionine synthase (MTR) gene in Russian and Buryat populations of Eastern Siberia. We used DNA blood database of children and teenagers of the Russian and Buryat nationality living in Eastern Siberia. Genotyping was carried out using standard PCR method. Prevalence of minor G-allele in Russian population was 25,7 %, in Buryat population – 13,2 %. We revealed differences in prevalence of genotypes and alleles between studied groups ($p = 0,051$; $p = 0,032$).

Key words: homocysteine, methionine synthase (MTR), multifactorial pathology, 2756A>G polymorphism, folate cycle

Ген метионинсинтазы (MTR) является одним из генов фолатного цикла, детерминирующим метаболизм гомоцистеина. Повышение концентрации последнего в крови предрасполагает к развитию множества патологий: сердечно-сосудистые заболевания, невынашивание беременности, врожденные аномалии нервной трубки у плода и другие [1, 2, 4, 5, 9].

Метионинсинтаза катализирует восстановление гомоцистеина до метионина. Ферментативная активность метионинсинтазы определяется разновидностью полиморфного локуса, кодирующего MTR, для которого описано 2422 полиморфизмов [8]. Однако, по данным ряда исследований, установлено, что одним из клинически значимых является полиморфизм 2756A>G [4, 5, 11]. Данный полиморфный локус представляет собой замену гуанина на аденин в положении 2756, приводящую к замене аспарагиновой кислоты на глицин [5]. Данная замена приводит к повышению плазменной концентрации гомоцистеина в крови, что является предрасполагающим фактором к развитию сердечно-сосудистых заболеваний [10, 11].

Распространенность полиморфизмов генов-кандидатов патологических состояний варьирует в разных популяциях мира, в том числе в популяциях Сибири [3, 6]. До настоящего времени отсутствуют работы, касающиеся распространенности полиморфизма 2756A>G гена метионинсинтазы среди подростков разных этнических групп Сибири.

Цель работы: исследовать частоты распространенности генотипов и аллелей и полиморфизма 2756A>G гена MTR в русской и бурятской популяциях

Восточной Сибири, а также провести сравнительный анализ распространенности данных полиморфизмов с аналогичными данными других исследователей мира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована база крови и ДНК, включающая детей и подростков I и II групп здоровья, проживающих на территории Восточной Сибири, русской (71 человек) и бурятской национальности (72 человека). Средний возраст исследуемых составил $16,3 \pm 3,4$ лет. Материалом для исследования служили образцы выделенной ДНК, венозной крови и капли крови, высушенные на фильтровальной бумаге.

При формировании выборки учитывалась этническая и проживание пробанда в конкретном географическом регионе не менее трех поколений. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Для генотипирования образцов использовался метод ПЦР-амплификации с детекцией в режиме реального времени, с предварительной экстракцией ДНК из образцов крови с помощью набора реагентов «ДНК сорб-Б» (ДНК-Технология).

Статистическая обработка результатов производилась с помощью онлайн-программы «Hardy – Weinberg equilibrium calculator» (OEGE). Расчеты для сравнительного анализа полученных данных с результатами других исследований производились с помощью программы «Statistica 8.0» с использованием нормальной аппроксимации и точного критерия Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам генотипирования выборки русской популяции по полиморфному локусу 2756A>G получены следующие результаты: частота гомозиготы AA составила 56,9 %; гетерозиготы AG – 34,7 %; гомозиготы GG – 8,3 %. Частотное распределение аллелей составило: 74,3% – А-аллель, 25,7% – минорная G-аллель.

По результатам генотипирования выборки бурятской популяции по изучаемому полиморфному локусу были получены следующие результаты: частота гомозиготы AA составила 75,0 %; гетерозиготы AG – 23,6 %; гомозиготы по минорной аллели GG – 1,4 %. Частотное распределение аллелей в популяции составило 86,8 % для аллели А и 13,2 % – для G-аллели (табл. 1).

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма 2756A>G гена MTR в популяционных выборках соответствовало равновесию Харди – Вайнберга как для русской ($\chi^2 = 0,59$; $p < 0,05$), так и для бурятской ($\chi^2 = 0,07$; $p < 0,05$) популяции.

Сравнительный анализ показал наличие значимых различий частот генотипов полиморфного

локуса 2756A>G между исследуемыми группами за счет увеличения носителей генотипа AA в бурятской выборке ($p = 0,024$). Также выявлены значимые различия частот распространенности аллелей данного полиморфизма между русской и бурятской популяциями за счет увеличения количества подростков-носителей минорного G-аллеля ($p = 0,051$). Результаты сравнительного анализа полученных частотных характеристик с аналогичными данными других исследователей мира представлены в таблице 2.

Для русской популяции были выявлены значимые различия распространенности минорной аллели полиморфного локуса 2756A>G с африканской ($p = 0,0081$) и корейской ($p = 0,0098$) популяциями [10]. Для бурятской популяции значимые различия были выявлены только в сравнении с русской ($p = 0,0348$) популяцией города Новосибирск [7].

Таким образом, сравнительный анализ распространенности полиморфного локуса 2756A>G гена MTR указывает на значимое превышение частоты минорной G-аллели в русской популяции подростков Восточной Сибири в сравнении с частотой данной аллели среди

Таблица 1
Частоты генотипов и аллелей полиморфного локуса 2756A>G гена MTR в изучаемых популяциях

Генотипы и аллели	Русские (n = 71)		Буряты (n = 72)	
	абс.	%	абс.	%
AA	41	56,9	54	75,0
AG	25	34,7	17	23,6
GG	6	8,3	1	1,4
A	107	74,3	125	87,8
G	37	25,7	19	13,2
Соответствие закону Харди – Вайнберга (χ^2)	Соответствует 0,59 ($p < 0,05$)		Соответствует 0,07 ($p < 0,05$)	

Примечание. n – численность выборки; p – значимость различий.

Таблица 2
Распространенность минорной G-аллели полиморфизма 2756A>G гена MTR в различных этнических популяциях мира и их сравнительный анализ с распространенностью данной аллели в исследуемых выборках

Популяция	Численность выборки (n)	Частоты аллелей (%)		p	
		аллель A	аллель G	русские	буряты
Африканцы (Мозамбик) [10]	60	92	8	0,0081	0,357
Корейцы [11]	106	89	11	0,0098	0,6854
Французы [10]	58	83	17	0,2203	0,5242
Монголы [11]	20	80	20	0,5834	0,4339
Итальянцы [11]	257	79	21	0,3668	0,129
Европеоиды (США) [11]	298	79	21	0,3584	0,1246
Японцы [11]	56	79	21	0,5112	0,2287
Америнды (североамериканские индейцы) [11]	26	73	27	0,9211	0,1043
Русские [7]	208	75	25	0,8671	0,0348
Эстонцы [11]	1952	80	20	0,1812	0,1641
Собственное исследование					
Русские	71	74	26	–	0,0509
Буряты	72	87	13	0,0509	–

Примечание. p – вероятность значимости различий.

подростков бурятской национальности. При этом распространенность полиморфизма 2756A>G соотносима с распространенностью данного полиморфизма в русской популяции Западной Сибири (Новосибирск).

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-5646.2014.7.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Баранова Е.И., Большакова О.О. Клиническое значение гомоцистеинемии (обзор литературы) // Артериальная гипертензия. – СПб., 2004. – № 10. – С. 12–15.

Baranova E.I., Bolshakova O.O. Clinical significance of homocysteinemia (literature review) // Arterial'naja gipertenzija. – Saint-Petersburg, 2004. – N 10. – S. 12–15. (in Russian)

2. Добролюбов А.С., Добрынина М.Л., Дюжев Ж.А., Липин М.А., Поляков А.В., Фетисова И.Н. Полиморфизмы генов фолатного обмена у женщин с привычной потерей беременности ранних сроков // Вестник новых медицинских технологий. – 2006 – Т. XIII, № 4. – С. 60.

Dobrolyubov A.S., Dobrynina M.L., Dyuzhev Zh.A., Lipin M.A., Polyakov A.V., Fetisova I.N. Polymorphisms of genes of folate exchange in women with customary interruption of early pregnancy // Vestnik novykh medicinskih tehnologij. – 2006 – Vol. XIII, N 4. – P. 60. (in Russian)

3. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Баирова Т.А., Бимбаев А.Б. Ген эндотелиальной синтазы оксид азота и эссенциальная артериальная гипертензия у подростков разных этнических групп, проживающих на территории Республики Бурятия // Бюллетень СО РАМН. – 2009. – № 6. – С. 109–115.

Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Bairova T.A., Bibmaev A.B. Gene of endothelial nitric oxide synthase and essential hypertension in adolescents of different ethnic groups living in the Buryat Republic // Bjulleten' SO RAMN. – 2009. – N 6. – P. 109–115. (in Russian)

4. Мирина Е.А., Коваленко К.А., Машкина Е.В., Шкурят Т.П. Исследование полиморфизма генов фолатного цикла и коагуляционных факторов крови у супружеских пар с бесплодием // Валеология. – 2011. – № 2. – С. 91–95.

Mirina E.A., Kovalenko K.A., Mashkina E.V., Shkurat T.P. Research of polymorphism of genes of folate cycle

and coagulation factors of blood in fertility-challenged couples // Valeologija. – 2011. – N 2. – P. 91–95. (in Russian)

5. Фетисова И.Н., Добролюбов А.С., Липин М.А., Поляков А.В. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – № 1. – С. 44–48.

Fetisova I.N., Dobrolyubov A.S., Lipin M.A., Polyakov A.V. Polymorphism of genes of folate exchange and human's diseases // Vestnik novykh medicinskih tehnologij. – 2007. – N 1. – P. 44–48. (in Russian)

6. Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г., Оденбах Л.А., Ефремова И.В. Роль метилирования ДНК и состояния фолатного обмена в развитии патологических процессов в организме человека // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2013. – № 4. – С. 39–43.

Shumatova T.A., Prikhodchenko N.G., Odenbach L.A., Efremova I.V. Role of DNA methylation and state of folate exchange in the development of pathological processes in human's organism // Tihookeanskij medicinskij zhurnal. – 2013. – N 4. – P. 39–43. (in Russian)

7. Щепотина Е.Г., Прасолова М.А., Иванов М.К. Новые наборы реагентов для выявления однонуклеотидных полиморфизмов генов фолатного цикла и системы свертывания крови // Новости «Вектор-Бест». – 2013. – № 2. – С. 7.

Shchepotina E.G., Prasolova M.A., Ivanov M.K. New sets of reagents for the determination of single nucleotide polymorphisms of genes of folate cycle and blood-clotting sequence // Novosti «Vektor-Best». – 2013. – N 2. – P. 7. (in Russian)

8. 5-Methyltetrahydrofolate-Homocysteine Methyltransferase // Gene Cards [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene>.

9. Botto N. Genetic polymorphisms in folate and homocysteine metabolisms risk factors for DNA damage // European Journal of Human Genetics. – 2003. – Vol. 11. – P. 671–678.

10. Li J.Z. Worldwide human relationships inferred from genome-wide patterns of variation // Science. – 2008. – N 319. – P. 1102.

11. Yu K. Methionine synthase 2756A>G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis // European Journal of Human Genetics. – 2010. – N 18. – P. 372–373.

Сведения об авторах

Иевлева Ксения Дмитриевна – врач-интерн Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: asiy91@mail.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (e-mail: tbairova@mail.ru)

Колесников Сергей Иванович – академик РАН

Калужная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (e-mail: kaluzhnayao@ya.ru)

Information about the authors

Ievleva Ksenia Dmitrievna – Resident of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; e-mail: asiy91@mail.ru)

Bairova Tatiana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (e-mail: tbairova@mail.ru)

Kolesnikov Sergey Ivanovich – Academician of RAS

Kalyuzhnaya Olga Viktorovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (e-mail: kaluzhnayao@ya.ru)