

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 У ТЕЛЕУТОВ, ШОРЦЕВ И ЕВРОПЕОИДОВ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Остапцева А.В., Шабалдин А.В., Ахматьянова В.Р.¹,
Минина В.И., Глушков А.Н., Дружинин В.Г.¹,
Зоркольева И.В.², Шабалдин Е.В.³, Глушкова О.А.,
Макарченко О.С., Агеева Т.Н.⁴

Институт экологии человека СО РАН,

¹ Кемеровский государственный университет,

² Институт цитологии и генетики СО РАН,

³ Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово

⁴ Беловская ЦРБ Кемеровской области

Резюме. Исследован полиморфизм интерлейкина 4 у телеутов, шорцев и европеоидов, проживающих в Кемеровской области. Для групп телеутов и европеоидов характерно равномерное или близкое к нему распределение аллелей IL-4. Наиболее распространенным генотипом в популяциях телеутов и европеоидов были гетерозиготы 2R/3R, а наиболее редкими – 3R/3R. Эти данные указывают на процессы метисации телеутского населения Кемеровской области с европеоидами Сибири. Основным генотипом в популяции шорцев был 3R/3R IL-4, а гетерозиготный генотип 2R/3R занимал вторую позицию.

Ключевые слова: интерлейкин 4, телеуты, шорцы, европеоиды.

Ostapstseva A.V., Shabaladin A.V., Akhmatianova V.R., Minina V.I., Glushkov A.N., Druzhinin V.G., Zorkoltseva I.V., Shabaladin E.V., Glushkova O.A., Makarchenko O.S., Ageeva T.N.

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF INTERLEUKIN 4 GENE POLYMORPHISM AMONG TELEUTIANS, SHORIANS, AND CAUCASIANS IN KEMEROVO REGION

Abstract. An interleukin 4 polymorphism has been studied in Teleutians, Shorians, and Caucasoids living in the Kemerovo Region. The groups of Teleutians and Caucasoids are characterised with even or close-to-even distribution of the IL-4 alleles. The most widespread genotype in populations of Teleutians and Caucasoids was the 2R/3R heterozygosity, and 3R/3R proved to be the mostly rare. These data are indicative for mixing processes among Teleutians in the Kemerovo Region and Siberian Caucasoids. The major IL-4 genotype in Shorian population was 3R/3R, and the heterozygotic genotype 2R/3R took the second position. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 5-6, pp 737-740)

Введение

Интерлейкин 4 (IL-4) является ведущей молекулой межклеточных взаимодействий. Участвует во вторичном иммунном ответе и способствует переключению плазмочитов с выработки IgM на IgA,

Адрес для переписки:

Остапцева Анна Викторовна,
650099, г. Кемерово, пр-т Советский, 18,
Институт экологии человека СО РАН,
Отдел молекулярной экологии человека,
Тел.: (3842) 54-59-52, факс: (3842) 54-59-52.
E-mail: annaost81@mail.ru

IgE, которые непосредственно работают в коже и слизистых, а также являются центральным звеном в противопаразитарном иммунитете. Кроме того, IL-4 играет важную роль в вынашивании беременности, являясь ключевой молекулой иммуотрофического обеспечения плаценты и плода [2, 8]. Для гена IL-4 показан полиморфизм как в интронной, так и в экзонной частях. Некоторые из аллелей определяют низкую экспрессию этого цитокина, что влечет за собой формирование иммунопатологии [6, 11]. Возможно, что по аналогии с другими полиморфными иммунокомпетентными генами, для IL-4 будут иметь место этноспецифические ассоциации.

В Кемеровской области совместно проживает население, имеющее европеоидное происхождение, а также коренные малочисленные народы Сибири – телеуты и шорцы. Ввиду замкнутости популяции вероятность инбридинга в данных этносах высока. Более того, телеуты и шорцы проживают в неблагоприятных экологических условиях, которые могут способствовать появлению новых мутаций и закреплению их в последующих поколениях. Поэтому особое значение для данной популяции имеют гены, связанные с иммунитетом – основным звеном защиты от патогенных факторов окружающей среды [3].

В литературе имеются лишь отдельные данные о полиморфизме аллелей и генотипов гена IL-4 у монголоидов [12].

Целью настоящей работы являлось исследование полиморфизма гена IL-4 у телеутов, шорцев и европеоидов Кемеровской области.

Материалы и методы

Для выполнения поставленных задач нами обследован 261 телеут, 210 шорцев и 334 представителя европеоидов, проживающих в Кемеровской области. Для исключения родственных связей в исследовании использовались образцы ДНК независимых предста-

вителей, в родословных которых на протяжении трех поколений не отмечены смешанные браки.

ДНК выделяли из лейкоцитарной венозной крови методом перхлоратной экстракции с последующим этанольным осаждением [13].

Для определения полиморфизма IL-4 использовался метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами фланкирующими полиморфный регион в пределах второго интрона, в котором находятся переменное количество tandemных повторов – 70 нуклеотидных пар (н. п.): 5'-GGCTACTGTGTGGTA AATAG3' и 5'-CCTACAACC GATCTG TCA GG3'. В результате амплификации детектировали фрагменты ДНК размером 255 и 325 н.п. с 2 и 3 tandemными повторами соответственно. Эти аллели обозначены Mout et al. как 2R и 3R [10] (рис. 1).

Для обработки данных о распределении полиморфизма гена IL-4 использовали стандартные генетико-статистические методы. Частоту аллелей и генотипов рассчитывали как процентное соотношение индивидов, несущих данный аллель и генотип, к общему числу исследуемых. Для определения статистически достоверной разницы в частоте встречаемости генов в сравниваемых группах использовался критерий Фишера для малых выборок с поправкой Йейтса на непрерывность, а также χ^2 . Различия

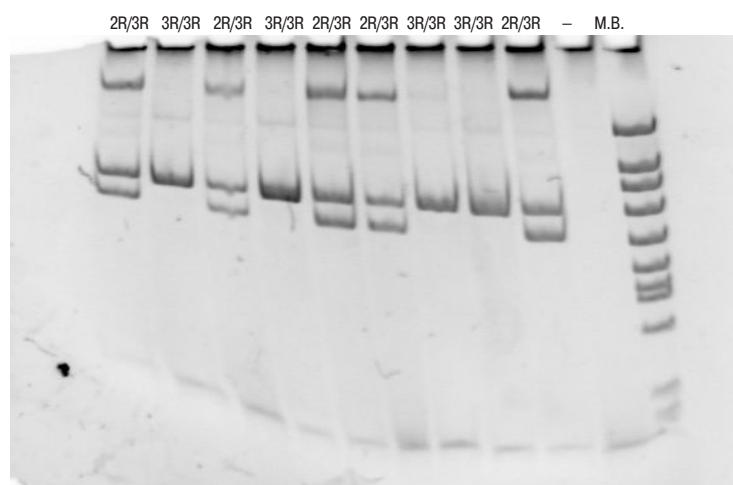


Рис 1. Электрофорез продуктов реакции повторяющихся tandemных повторов IL-4 в 6%-м полиакриламидном геле. Дорожки обозначены полученными генотипами. М.В. - стандарт молекулярного веса ДНК плазмиды рBluscript SK 2, которая гидролизирована эндонуклеазой рестрикции Msp 1.

Табл. 1. ЧАСТОТА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ В ПОПУЛЯЦИИ ТЕЛЕУТОВ

Аллели	Телеуты (%) N=522	Шорцы (%) N=210	Европеоиды (%) N=334	P 1-2	P 2-3	P 1-3
2R	275 (52,7)	73 (34,76)	152 (45,51)	*	*	*
3R	247 (47,5)	137 (65,24)	182 (54,49)	*	*	*
Генотипы	N=261	N=105	N=167			
2R/2R	83 (31,8)	18 (17,14)	42 (25,15)	*		
2R/3R	108 (41,4)	37 (35,24)	68 (40,72)			
3R/3R	70 (26,8)	50 (47,62)	57 (34,13)	*	*	

* P<0,05 для сравниваемых групп.

считали достоверными при ошибке менее или равной 5% ($p < 0,05$) [5, 7].

Результаты

Полиморфизм гена IL-4 связан с наличием tandemных повторов в пределах второго интрона [10]. Выявлено два аллеля, соответствующих 2 и 3 повторам (2R и 3R).

Как видно из таблицы 1, у телеутов аллели 2R и 3R встречались с частотой 52,7 и 47,5%, что соответствовало пропорции 50 на 50%. Наиболее часто встречался генотип 2R/3R (41,4%), на втором месте по частоте встречаемости был генотип 2R/2R (31,8%). Частота гомозигот 3R/3R составила 26,8%. Достоверных отличий в пределах популяции телеутов не получено, что говорит о равномерном характере распределения аллелей и генотипов и о стабильности популяции по данному генетическому локусу.

В популяции шорцев встречались оба аллеля полиморфной системы IL-4. Причем частота встречаемости аллеля 3R была достоверно выше частоты встречаемости 2R аллеля (65,24 и 34,76% соответственно). Наиболее часто среди шорцев встречался генотип 3R/3R (47,62%), вторым по частоте встречаемости был генотип 2R/3R (35,24%). Реже всего встречались гомозиготы 2R/2R (17,14%).

У европеоидов Сибири картина распределения аллелей IL-4 схожа с таковой у телеутов, так, частота 2R аллеля равна 45,51%, а 3R аллеля 54,49%. С наибольшей частотой встречался гетерозиготный генотип 2R/3R (40,72%). Более низкая частота встречаемости была характерна для гомозигот 3R/3R (34,13%) и гомозигот 2R/2R (25,15%).

Обсуждение

При сравнении полученных результатов по трем изучаемым популяциям можно сказать, что для групп телеутов и европеоидов характерно равномерное или близкое к нему распределение аллелей IL-4. Наиболее распространенным генотипом в популяциях телеутов и европеоидов были гетерозиготы 2R/3R, а наиболее редкими – 3R/3R. Ни по одной из частот генотипов не обнаружено достоверных различий между телеутами и европеоидами. Эти данные указывают на процессы метисации телеутского населения Кемеровской области с европеоидами Сибири.

Прямо противоположные данные получены при сравнении шорцев и европеоидов. Так, основным генотипом в популяции шорцев был 3R/3R IL-4, а гетерозиготный генотип 2R/3R занимал вторую позицию. По частоте встречаемости гомозигот 3R/3R шорцы отличались от европеоидов. Как известно, господствующий признак связан либо с максималь-

ным, либо с минимальным эффектом гена. С этих позиций интересна роль гомозиготности по 3R/3R аллелю. Ранее было показано, что этот генотип ассоциирован со слабым иммунным ответом на антигены герпетических вирусов [9]. В связи с этим, низкая частота встречаемости этого генотипа у телеутов и европеоидов может быть объяснена иммунной адаптацией к вирусам герпеса на уровне популяции. Лидирующая позиция этого генотипа у шорцев связана либо с инбридингом, что влечет за собой герпетическую эндемию в популяции, либо с “изменением свойств” этого аллеля. То есть в популяции шорцев генотип 3R/3R не был связан с серонегативностью к антигенам (АГ) герпес-вирусов. Последнее предположение требует доказательств (дополнительного исследования ассоциации силы иммунного ответа на АГ герпес-вирусов с аллелями и генотипами IL-4 у шорцев). Механизм этнических особенностей в ассоциациях VNTR аллеля IL-4 с иммунопатологией определяется тем, что реальные эконспецифические мутации, приводящие к изменениям функциональной активности молекулы IL-4, в разных популяциях не равновесно сцеплены с различными VNTR аллелями, находящимися в интроне. В последнем случае высокая частота гомозигот 3R/3R у шорцев может быть маркером иммунной адаптации популяции к факторам внешней среды.

Сравнение частот встречаемости аллелей и генотипов у телеутов и шорцев показало большое число статистически достоверных различий. Основные достоверно значимые отличия касались двух гомозиготных генотипов 3R/3R и 2R/2R. Как уже говорилось выше, у телеутов гомозиготы по 3R аллелю встречались с наименьшей частотой, в то время как у шорцев, это был лидирующий генотип. Напротив, гомозиготы по 2R аллелю среди телеутов были вторыми по частоте, а у шорцев они занимали последнюю позицию. Эти данные указывают на две возможные ситуации: либо частоты гомозигот по 2R и 3R аллелям отражают иммунную адаптацию телеутов и дезадаптацию шорцев к факторам окружающей среды; либо данные свидетельствуют в пользу этноспецифических особенностей по этому гену и, как следствие, об иммунном балансе обеих популяций.

Таким образом, несмотря на общность происхождения телеутов и шорцев, а обе народности имеют тюркское происхождение и относятся к уральской расе [1,4], у них обнаружены принципиальные различия по гену IL-4. Показано, что телеуты в отличие от шорцев претерпели разительно большую метисацию, и полиморфизм по многим генам у них, включая иммунокомпетентные, соответствует европеоидному. Следовательно, ассоциации с иммунопатологией в гене IL-4 будут соответствовать европеоидным. Для шорцев показано различие в частоте встречаемости аллелей и генотипов IL-4 не только с европеоидами, но и с телеутами. Кроме того, у шорцев

гомозиготный генотип 3R/3R был лидирующим. Этот факт указывает на возможные этноспецифические ассоциации в гене IL-4 у шорцев.

Работа выполнена в рамках интеграционного проекта СО РАН №57 и поддержана грантом программы президиума РАН «Адаптация народов и культур к изменениям природной среды, социальным и техногенным трансформациям».

Список литературы

1. Алексеев В.П. География человеческих рас М. Наука, 1974. – 351 с.
2. Галактионов В. Г. Иммунология. – М.: РИЦ МДК, 2000. – 356 с.
3. Гафаров Н.И. Генетический полиморфизм у телеутов Беловского района Кемеровской области: сывороточные белки и эритроцитарные ферменты // Генетика человека и патология. Сборник научных трудов. – К., 2002. – №6 – С. 25-27.
4. Деренко М. В., Малярчук Б.А., Денисова Г.А., Доржу Х.М., Карамчакова О.Н., Лузина Ф.А., Лотош Е.А., Дамбуева И.К., Ондар У.Н. Полиморфизм дигаллельных локусов Y-хромосомы у коренного населения Алтае-Саянского нагорья // Генетика. - 2002. - Т. 38. - № 3. – С. 393-399.
5. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. – М.: Высшая школа, 1991. – 245 с.
6. Коненков В.И. Анализ полиморфизма гена IL-4 у здоровых и ВИЧ-инфицированных // Микробиология. – 2001. - №4. – С. 28-32.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
8. Пол У. Иммунология. – М.: Мир, 1988. – Т. 2. – 456 с.
9. Шабалдин А.В. Иммуногенетические аспекты раннего онтогенеза: Дис. ... д-ра мед. наук/ А.В. Шабалдин. – Кемерово, 2005. – 323 с.
10. Mout R., Willemze R., Landegent J.E. Repeat polymorphisms in the interleukin-4 gene (IL4) // Nucleic. Acids. Res. – 1991. – Vol.19. – №13. – P. 3763.
11. Nakayama E. Polymorphism in the Interleukin-4 Promoter Affects Acquisition of Human Immunodeficiency Virus Type Syncytium-Inducing Phenotype // Journal of Virology. – 2000. – Vol. 74. – №12. – p. 5452-5459.
12. Noguchi E. No Association between Atopy/Asthma and the Ile50val Polymorphism of IL-4 Receptor // American journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 1999. – Vol. 160. – №1. – p. 342-345.
13. Unfried G., Tempfer C., Schneeberger C. Interleukin 1 receptor antagonist polymorphism in women with idiopathic recurrent miscarriage // Fertil. Steril. - 2001. – Vol.75. – №4. – P.683.

поступила в редакцию 03.06.2006

принята к печати 20.06.2006