

СОЦИАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 615.356+575.22

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D (VDR) В ВЫБОРКАХ НАСЕЛЕНИЯ ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ И ПРИУРАЛЬЯ

А.И. Козлов^{1,2}, Г.Г. Вершубская¹, М.А. Негашева¹*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

²Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, Россия

POLYMORPHISM OF VITAMIN D RECEPTOR (VDR) GENE IN SAMPLING OF EUROPEAN RUSSIA AND PRIURALIYE POPULATION

A.I. Kozlov^{1,2}, G.G. Vershubskaya¹, M.A. Negasheva¹*

¹Moscow State University named after M.V. Lomonosov,

²Perm State Humanitarian-Pedagogical University, Russian Federation

Цель. Оценить частоты генотипов VDR BsmI (rs1544410) и FokI (rs10735810) у этнических русских и в различных группах населения Волго-Камского региона и Приуралья.

Материалы и методы. Обследованы выборки русских европейской части РФ ($n = 96$) и восточных финнов – коми-пермяков ($n = 71$), коми ($n = 190$) и удмуртов ($n = 86$). Частоты генотипов определены методом ПЦР-амплификации.

Результаты. От жителей Москвы (без учета этнической принадлежности) русские отличаются распределением VDR FokI ($p = 0,09001$), но не BsmI. Восточные финны в регионах их исторического проживания не различаются по VDR FokI и BsmI, но от русских отличаются по частотам BsmI ($p = 0,0856$).

Выводы. Результаты соответствуют предположению о специфике частот аллелей VDR в различных этнических группах.

Ключевые слова. Витамин D, рецептор витамина D, VDR, FokI, BsmI, костная ткань.

Aim. To assess the genotype frequencies of VDR BsmI (rs1544410) and FokI (rs10735810) in ethnic Russian population and in different groups of the population of Volgo-Kamsky region and Priuraliye.

Materials and methods. Samplings of Russians of the European part of RF ($n = 96$) and Eastern Finns including Komi-Permyaks ($n = 71$), Komis ($n = 190$) and Udmurts ($n = 86$) were examined. Genotype frequencies were determined using the method of PCR-amplification.

© Козлов А.И., Вершубская Г.Г., Негашева М.А., 2016

тел. 8 (912) 486 73 04

e-mail: dr.kozlov@gmail.com

[Козлов А.И. (*контактное лицо) – доктор биологических наук, старший научный сотрудник, Вершубская Г.Г. – инженер, Негашева М.А. – доктор биологических наук, профессор кафедры антропологии].

Results. Russians differ for the inhabitants of Moscow (without taking into account ethnic origin) by the distribution of VDR FokI ($p = 0,09001$), but not BsmI. Eastern Finns in the regions of their historical residence do not differ by VDR FokI and BsmI, but they differ from Russians by BsmI frequencies ($p = 0,0856$).

Conclusions. The obtained results agree with the assumption about the specificity of VDR allele frequencies in different ethnic groups.

Key words. Vitamin D, Vitamin D receptor, VDR, FokI, BsmI, bone tissue.

ВВЕДЕНИЕ

Функционирование важного регулятора минерального обмена, D-витамин-эндокринного комплекса, основано на балансе получаемого из внешней среды витамина эргокальциферола и синтезируемого организмом гормона холекальциферола; физиологически активным является конечный метаболит этих веществ – кальциферол [18]. Прорыв в физиологических, клинических и эпидемиологических технологиях исследования проблем, связанных с витамином D, обеспечила разработка в 1980-х гг. методов прямого объективного анализа содержания витамина в организме [35]. Однако по мере накопления данных стало появляться все больше свидетельств того, что статус организма определяется не только содержанием кальциферола, но и чувствительностью к нему органов и тканей. Этот последний фактор оказался генетически детерминированным: установлено, что в связывании активной формы вещества участвует внутриклеточный рецептор, кодируемый геном локуса рецептора витамина D (VDR). Он вступает в действие на финальном этапе D-витаминного обмена, определяя чувствительность органов-мишеней к кальциферолу [34].

Ген VDR локализован в 12-й хромосоме (регион 12q13). Его аллельные варианты выделяют по соответствующим сайтам распознавания эндонуклеаз (рестриктаз). Интерес исследователей вызывают локализованный в экзоне 2 FokI (rs10735810) и расположенные между 8-м и 9-м экзонами BsmI (rs1544410),

Apal (rs7975232) и TaqAI (rs731236); наиболее перспективны в клинико-диагностическом отношении BsmI и FokI [34].

В ходе нормального онтогенеза ген VDR влияет на общее содержание костной ткани в организме и обусловленную развитием скелета длину тела [5, 23, 24, 28, 31]. Поскольку ген детерминирует абсорбцию кальция и минеральную плотность кости [12, 15, 20, 33], внимание исследователей обратилось к выяснению его связей с патологией костной ткани. Подтвержден вклад полиморфизма VDR в развитие остеопороза [3, 6, 7, 17, 21, 36] и остеоартритов [14, 19].

К настоящему времени установлено, что D-витаминные расстройства ведут к гораздо более широкому спектру отклонений, чем представлялось ранее [9]. Молекулярно-генетические исследования показали, что ген VDR является одним из детерминантов иммунной защиты [8], а его полиморфизм ассоциирован с риском развития пародонтита [1, 29], туберкулеза [27], различных форм онкологических заболеваний [22, 25, 32]. Рядом работ подтверждена роль полиморфизма VDR в патогенезе артериальной гипертензии [11, 30] и метаболического синдрома [16, 26]. Сообщается о связи аллельных вариантов VDR с рассеянным склерозом [2], болезнью Паркинсона [13] и сирингомиелией [4].

Сегодня методы генетического анализа уже не воспринимаются врачами как «технологическая экзотика». Можно ожидать, что типирование полиморфизма VDR в ближайшие го-

ды станет одной из распространенных диагностических процедур. Ситуация, однако, осложняется тем, что экспрессия этого гена может быть обусловлена расовыми, этническими и антропологическими факторами [5, 17, 34, 36, 37]. Учитывая это, следует обратить внимание на накопление и систематизацию данных о генетических детерминантах чувствительности тканей к кальциферолу у населения различных регионов и этнических групп. Эта задача актуальна для регионов Волго-Камья и Приуралья, в которых, помимо численно преобладающих русских, значительную часть населения составляют восточно-финские народы, относящиеся к группе пермских финнов: коми, коми-пермяки и удмурты.

Цель настоящего исследования – оценить частоты полиморфизмов гена рецептора витамина D (VDR) у этнических русских и в различных группах населения Волго-Камского региона и Приуралья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Использована коллекция образцов ДНК этнических русских (уроженцы европейской части РФ) и восточных финнов (коми-пермяков, коми и удмуртов), случайным образом отобранных среди неродственных индивидов, проживающих на территориях Пермского края и республик Коми и Удмуртия. Этническая принадлежность устанавливалась по национальности родителей индивида. Общее число включенных в исследование – 443 человека.

Сбор образцов осуществлялся в ходе плановых медицинских обследований. Участники дали информированное согласие на использование материалов в научных целях.

Выделение ДНК из собранных на фильтровальную бумагу образцов цельной крови осуществляли методом фенольно-хлороформной экстракции с помощью наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN). ПЦР-амплификацию аллелей гена VDR BsmI (T/C) и FokI (T/C) проводили согласно опубликованным протоколам [27]. Фрагменты подвергали электрофорезу в 10%-ном полиакриламидном геле; визуализацию проводили при ультрафиолетовом освещении с применением систем KODAK Gel Logic 200 Imaging System и KODAK 1D Image Analysis Software. Молекулярно-генетический анализ осуществлен на базе коммерческой диагностической лаборатории.

При отсутствии сайта рестрикции BsmI в обоих аллелях генотип обозначали как BB, при наличии сайта рестрикции в обоих аллелях – bb, у гетерозигот – Bb. Для FokI варианты T/C далее аналогичным образом обозначены как F/f.

Гипотеза о принадлежности выборок к одной генеральной совокупности (т.е. отсутствии различий в распределении частот генотипов между выборками) проверялась при помощи критерия χ^2 Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частоты генотипов VDR по FokI и BsmI в наших выборках приведены в табл. 1. В доступных источниках мы не нашли данных о распределении частот VDR в восточно-финских популяциях, поэтому единственным путем для анализа остается сравнение наших выборок между собой. В табл. 2 представлены уровни значимости предположения об отсутствии различий в частотах генотипов в парах сравниваемых выборок коми, коми-пермяков и уд-

муртов. По распределению генотипов VDR FokI и BsmI эти выборки значимо не различаются: во всех случаях нулевая гипотеза не отвергается. Таким образом, их можно объединить в условную «восточно-финскую» группу.

Таблица 1

**Частоты генотипов VDR по FokI и BsmI
в выборках восточно-финского и русского населения**

Этническая группа	FokI (rs10735810)			BsmI (rs1544410)		
	Генотип	N	%	Генотип	N	%
Коми	FF	49	25,8	BB	19	20,4
	Ff	101	53,2	Bb	30	32,3
	ff	40	21,0	bb	44	47,3
Коми-пермяки	FF	14	19,7	BB	6	18,2
	Ff	39	54,9	Bb	15	45,5
	ff	18	25,4	bb	12	36,4
Удмурты	FF	24	27,9	BB	5	10,4
	Ff	50	58,1	Bb	19	39,6
	ff	12	11,4	bb	24	50,0
Русские	FF	28	29,2	BB	7	7,3
	Ff	55	57,3	Bb	40	41,7
	ff	13	13,5	bb	49	51,0
Женщины г. Москвы*	FF	18	30,0	BB	7	11,7
	Ff	26	43,3	Bb	25	41,7
	ff	16	26,7	bb	28	46,7

Примечание: * данные взяты из источника [10].

Таблица 2

**Сравнение частот генотипов VDR по FokI и BsmI
в выборках восточных финнов**

Этническая группа	Значимость различий по частотам генотипов (критерий χ^2 Пирсона)			
	FokI (rs10735810)		BsmI (rs1544410)	
	коми-пермяки	удмурты	коми-пермяки	удмурты
Коми	0,53541	0,37671	0,38546	0,30100
Коми-пермяки	–	0,15012	–	0,39711

Распределение генотипов VDR у обследованных нами этнических русских европейской части России мы сравнили с характеристиками выборки «здоровых» женщин г. Москвы по материалам А.Н. Тагиевой и др. [10] (опубликованные в указанной работе частоты генотипов приведены в табл. 1). Согласно критерию χ^2 Пирсона, по распределению генотипов BsmI различия незначимы ($p = 0,62792$), но по генотипам FokI $p = 0,09001$. Поскольку при принятии решения об одно-

родности выборки выбирается десятипроцентный уровень достоверности, следует заключить, что этнические русские значимо отличаются от выборки, формировавшейся без учета этнической принадлежности.

Значимо отличается выборка этнических русских ($n = 96$) и от объединенной «восточно-финской» ($n = 347$) по частотам генотипов BsmI: нулевая гипотеза отвергается на уровне 10 % ($p = 0,0856$). Различия по FokI не значимы ($p = 0,31068$).

Суммируя изложенное, можно заключить, что от выборки из московской популяции, сформированной без учета этнической принадлежности индивидов, этнические русские отличаются распределением генотипов VDR FokI, но не BsmI. Выборки из антропологически родственных друг другу восточно-финских групп, обследованных в регионах их исторического проживания, сходны между собой по распределению генотипов VDR FokI и BsmI. При этом частоты указанных генотипов у восточных финнов отличаются от обнаруженных в русской выборке.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о популяционной неоднородности распределения частот аллелей и генотипов VDR в различных группах населения европейской части России, которая может быть обусловлена как этническими [17, 34, 36, 37], так и антропоэкологическими [5] факторами.

Выводы

Впервые полученные данные о частотах аллелей гена VDR в выборках этнических русских европейской части РФ, коми, коми-пермяков и удмуртов подтверждают предположение о специфике распределения генотипов VDR FokI и BsmI в различных этнических группах.

Поскольку D-витамин-эндокринный комплекс и ген рецептора витамина D (VDR) играют важную роль в формировании и развитии костной ткани и в патогенезе широкого круга заболеваний, для совершенствования медико-генетической диагностики важно дальнейшее накопление информации о распределении частот VDR в популяциях России.

БЛАГОДАРНОСТИ

Поддержано грантом РФФИ 15-04-02309.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Атрушкевич В.Г., Зяблицкая М.С.* Полиморфизм гена VDR и пародонтит, available at: http://www.stomport.ru/article-pro_show_id_337.
2. *Бабенко С.А., Алифарова В.М., Орлова Ю.Ю., Пузырев В.П.* Связь аллельных вариантов гена VDR с рассеянным склерозом. Бюллетень сибирской медицины, 2008, 5: 40–46.
3. *Беневоленская Л.И., Финогенова С.А.* Генетика остеопороза. II. Изучение роли гена рецептора витамина D. Остеопороз и остеопатии 1999; 3: 28–31.
4. *Борисова Н.А., Хуснутдинова Э.К., Хидиятова И.М., Абулгатина А.С., Мирсаев Т.Р., Хусаинова Р.И., Кутуев И.А.* Исследование полиморфизмов Spl (1546G>T) гена коллагена 1 и FokI (3663T>C) гена рецептора витамина D у больных сирингомиелией. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова 2007; 9: 60–66.
5. *Козлов А.И., Вершубская Г.Г., Атеева Ю.А., Орр П., Лакомб Л.* Ассоциация полиморфизма гена рецептора витамина D с антропометрическими показателями в группе этнических коми. Экологическая генетика 2013; 11 (2): 41–49.
6. *Кочеткова Е.А., Бубнов О.Ю., Васильева Т.Г., Белых О.А.* Генетические аспекты остеопороза. Тихоокеанский медицинский журнал 2005; 2: 14–17.
7. *Мякоткин В.А., Крылов М.Ю., Гусева И.А., Четина Е.В., Тортоцова Н.В., Никитинская О.А., Самаркина Е.Ю., Беневоленская Л.И.* Молекулярно-генетическое тести-

рование предрасположенности к остеопорозу у женщин в менопаузе в Москве. Научно-практическая ревматология 2011; 2: 15–20.

8. Рудко А.А., Кондратьева Е.И., Янкина Г.Н., Лошкова Е.В., Пузырев В.П. Полиморфизм генов – модификаторов иммунного ответа: влияние на развитие целиакии и варианты ее клинического течения в томской популяции. Молекулярная биология 2008; 42(1): 42–49.

9. Стиричев В.Б. О биологических эффектах витамина D. Педиатрия 2011; 90 (6): 113–119.

10. Тагиева А.Н., Сметник В.П., Сухих Г.Т., Крылов М.Ю., Греченко А.В., Мякоткин В.А., Беневоленская Л.И. Изучение роли генов рецептора витамина D (VDR), α -рецептора эстрогенов (ESR α) и α -1-цепи коллагена 1-го типа (COL1A1) в заболеваемости остеопорозом у женщин в постменопаузе. Медицинская генетика 2005; 4 (2): 90–95.

11. Ших Е.В., Милотова Н.М. Роль полиморфизма гена VDR, кодирующего рецептор витамина D, в патогенезе артериальной гипертонии. Биомедицина 2009; 1: 55–67.

12. Ames S.K., Ellis K.J., Gunn S.K., Copeland K.C., Abrams S.A. Vitamin D receptor gene FokI polymorphism predicts calcium absorption and bone mineral density in children. J Bone Mineral Res 1999; 14 (5): 740–746.

13. Butler M.W., Burt A., Edwards T.L., Zuchner S., Scott W.K., Martin E.R. Vitamin D receptor gene as a candidate gene for Parkinson disease. Ann Hum Genet 2011; 75 (2): 201–210.

14. Colombini A., Cauci S., Lombardi G., Lanteri P., Croiset S., Brayda-Bruno M., Banfi G. Relationship between vitamin D receptor gene (VDR) polymorphisms, vitamin D status, osteoarthritis and intervertebral disc degeneration. J Steroid Biochem Mol Biol 2013; 138: 24–40.

15. Fang Y., van Meurs J.B.J., Rivadeneira F., van Schoor N.M., van Leeuwen J.P.T., Lips P., Pols H.A.P., Uitterlinden A.G. Vitamin D receptor gene haplotype is associated with body height and bone size. J Clin Endocrinol Metabol 2007; 92(4): 1491–1501.

16. Filus A., Trzmiel A., Kuliczowska-Plaksej J., Tworowska U., Jedrzejuk D., Milewicz A., Medras M. Relationship between vitamin D receptor BsmI and FokI polymorphisms and anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome. Aging Male 2008; 11 (3): 134–139.

17. Gang Q., Dong Z., Zeng P., Liu M., Liao X. Association of vitamin D receptor BsmI gene polymorphism with risk of osteoporosis: a meta-analysis of 41 studies. Mol Biol Rep 2013; 40 (1): 497–506.

18. Holick M.F. Vitamin D deficiency. N Engl J Med 2007; 357: 266–281.

19. Huang J., Ushiyama T., Inoue K., Kawasaki T., Hukuda S. Vitamin D receptor gene polymorphisms and osteoarthritis of the hand, hip, and knee: a case-control study in Japan. Rheumatology 2000; 39: 79–84.

20. Jakubowska-Pietkiewicz E., Mlynarski W., Klich I., Fendler W., Chlebna-Sokol D. Vitamin D receptor gene variability as a factor influencing bone mineral density in pediatric patients. Mol Biol Rep 2012; 39(5): 6243–6250.

21. Jia F., Sun R.F., Li Q.H., Wang D.X., Zhao F., Li J.M., Pu Q., Zhang Z.Z., Jin Y., Liu B.L., Xiong Y. Vitamin D receptor BsmI polymorphism and osteoporosis risk: a meta-analysis from 26 studies. Genet Test Mol Biomarkers 2013; 17 (1): 30–44.

22. Kostner K., Denzer N., Muller C.S., Klein R., Tilgen W., Reichrath J. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. Anticancer Res 2009; 29(9): 3511–3536.

23. *Kremer R., Campbell P.P., Reinhardt T., Gilsanz V.* Vitamin D status and its relationship to body fat, final height, and peak bone mass in young women. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94 (1): 67–73.
24. *Lorentzon M., Lorentzon R., Nordstrom P.* Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with birth height, growth to adolescence, and adult stature in healthy Caucasian men: a cross-sectional and longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85 (4): 1666–1670.
25. *Raimondi S., Johansson H., Maisonneuve P., Gandini S.* Review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Carcinogenesis* 2009; 30 (7): 1170–1180.
26. *Schuch N.J., Garcia V.C., Vivolo S.R.G.F., Martini L.A.* Relationship between Vitamin D Receptor gene polymorphisms and the components of metabolic syndrome. *Nutrition Journal* 2013; 12: 96, available at: <http://www.nutritionj.com/content/12/1/96>.
27. *Selvaraj P., Chandra G., Jawabar M.S., Rani M.V., Rajeshwari D.N., Narayanan P.R.* Regulatory role of vitamin D receptor gene variants of BsmI, ApaI, TaqI, and FokI polymorphisms on macrophage phagocytosis and lymphoproliferative response to Mycobacterium tuberculosis antigen in pulmonary tuberculosis. *J Clin Immunol* 2004; 24: 523–532.
28. *Suarez F., Zeghoud F., Rossignol C., Walrant O., Garabedian M.* Association between vitamin D receptor gene polymorphism and sex-dependent growth during the first two years of life. *J Clin Endocr Metabol* 1997; 82 (9): 2966–2970.
29. *Sun J.L., Meng H.X., Cao C.F., Tachi Y., Shinobara M., Ueda M., Imai H., Obura K.* Relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and periodontitis. *J Periodont Res* 2002; 37: 263–267.
30. *Swapna N., Mohana Vamsi U., Usba G., Padma T.* Risk conferred by FokI polymorphism of vitamin D receptor (VDR) gene for essential hypertension. *Ind J Hum Genet* 2011; 17 (3): 201–206.
31. *Tao C., Yu T., Garnett S., Briody J., Knight J., Woodhead H., Cowell C.T.* Vitamin D receptor alleles predict growth and bone density in girls. *Arch Dis Child* 1998; 79: 488–494.
32. *Touvier M., Chan D.S.M., Lau R., Aune D., Vieira R., Greenwood D.C., Kampman E., Riboli E., Hercberg S., Norat T.* Meta-analyses of vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D status, vitamin D receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidem. Biomark Prevent* 2011; 20 (5): 1003–1016.
33. *Uitterlinden A.G., Fang Y., Bergink A.P., van Meurs J.B.J., van Leeuwen H.P.T. M., Pols H.A.P.* The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in bone biology. *Mol Cel Endocrinol* 2002; 197 (1–2): 15–21.
34. *Uitterlinden A.G., Fang Y., van Meurs J.B.J., Pols H.A.P., van Leeuwen J.P.T.M.* Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms: Review. *Gene* 2004; 338: 143–156.
35. *Zerwekh J.E.* Blood biomarkers of vitamin D status. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1087S–1091S.
36. *Zhu Z.H., Jin X.Z., Zhang W., Chen M., Ye D.Q., Zhai Y., Dong F.L., Shen C.L., Ding C.* Associations between vitamin D receptor gene polymorphisms and osteoarthritis: an updated meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)* 2014; 53(6): 998–1008.
37. *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: 317–326.

Материал поступил в редакцию 12.06.2016