

**ПОЛИМОРФИЗМ И СВЯЗЬ С ФАКТОРАМИ РИСКА НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ
ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ В
ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ СИБИРИ (МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И
ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)**

М.И. Воевода

Научно-исследовательский институт терапии СО РАМН, Новосибирск

Анализ полиморфизма митохондриальной ДНК в различных этнических группах Евразии свидетельствует о возможности их формирования из единой древней популяции человека в Центральной и Средней Азии с первоначальным расхождением западных и восточных полюсов, контрастных в антропологическом и генетическом отношении, и последующим радиальным расхождением от них современных этнических групп. Наиболее близок к предковому состоянию западной протопопуляции генофонд окраинных этнических групп Европы и Западной Сибири. В формировании особенностей полиморфизма ядерных генов впоследствии существенную роль сыграла его адаптационная значимость. Уровень полиморфизма генов АпоЕ и АПФ в европеоидной популяции Сибири близок к регистрируемому в Западной Европе. Частоты аллелей E2, E3 и E4 гена АпоЕ составили 0,057, 0,823 и 0,120 соответственно. Частоты аллелей I и D гена АПФ составили 0,477 и 0,523. В популяции коренных жителей Чукотки в случае гена АпоЕ обнаружены только аллели E3 и E4 с частотами 0,826 и 0,174. Частоты аллелей I и D гена АПФ составили 0,680 и 0,320. По уровню полиморфизма генов АпоЕ и АПФ коренные жители Чукотки отличаются от европеоидных этнических групп и близки к коренному населению арктической зоны Северной Америки. Полиморфизм гена АПФ в европеоидной популяции Сибири не связан с уровнем артериального давления. У коренных жителей Чукотки отмечается значимая ассоциация полиморфизма гена АПФ с пульсовым артериальным давлением. Частота D/D генотипа Alu-инсерционного полиморфизма гена АПФ достоверно повышается после 50 лет в европеоидной популяции мужчин г. Новосибирска. В возрастной группе 45–64 лет наблюдается снижение частоты гомо- и гетерозиготных генотипов гена АПФ с инсерцией Alu-элемента, по-видимому, вследствие более высокого уровня смертности среди их носителей. В европеоидной популяции мужчин Западной Сибири полиморфизм гена АпоЕ достоверно ассоциирован с изменчивостью уровней ОХС и ТГ, в основном за счет аллеля E2. Обнаружено возрастание их уровней в ряду генотипов E2/2, 2/3, 2/4. У коренных жителей Чукотки полиморфизм АпоЕ связан с изменчивостью уровня ОХС у женщин. Обнаружено, что в популяции арктических монголоидов Чукотки и Северной Америки широко распространен специфический аллельный вариант АпоВ 3405GIU. Его частота составляет 0,090, 0,180 и 0,175 у чукчей, азиатских и канадских эскимосов соответственно. Наличие в генотипе данного аллеля приводит к повышению уровня ОХС у женщин самостоятельно и во взаимодействии с полиморфизмом АпоЕ. Существуют различия в частотах генотипов и аллелей по этому полиморфизму в половых группах. Обнаружен новый полиморфизм гена рМКСФ, распространенный как в европеоидных, так и монголоидных популяциях Северной Азии. Частота более редкого аллеля составляет 0,231 в мужской европеоидной популяции г. Новосибирска и 0,236 у коренных жителей Чукотки. Данный полиморфизм характеризуется различиями частот генотипов между возрастными группами и значимо ассоциирован с вариабельностью уровня ХС ЛПВП у мужчин г. Новосибирска.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие современной молекулярной биологии и генетики открыло новые перспективы в раскрытии наследственных основ патологии человека. В первую очередь это касается возможности идентификации генов, структурные из-

менения которых или непосредственно являются причиной развития патологического состояния в случае наследственных болезней, или формируют фенотип с повышенной чувствительностью к неблагоприятным внешним факторам в случае мультифакториальных заболеваний. Обнаружение

локусов генома, ответственных за формирование наследственной предрасположенности к болезням, приобретает основополагающее значение для определения ключевых звеньев их патогенеза, для раннего выявления подверженных лиц и проведения адресованной первичной профилактики, для выбора мишеней с целью поиска новых лекарственных средств, для индивидуализации лечебных режимов и разработки новых диагностических подходов.

В настоящее время известен ряд полиморфных генов, определенные аллельные варианты и генотипы которых обнаруживают связь с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) (Пузырев В.П., Степанов В.А., 1997). В их число входят гены, связанные с нарушениями липидного обмена, артериальной гипертензией, неблагоприятными сдвигами в системе гемостаза и изменениями функционирования различных типов клеток на биохимическом и физиологическом уровнях. Учитывая сложность патогенеза распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы, очевидно, что перечень известных генов-кандидатов, вносящих вклад в их возникновение, является далеко не полным, и к нему постоянно добавляются новые геномные локусы. Кроме этого в случае сердечно-сосудистых заболеваний, как и при любой другой мультифакториальной патологии, диапазон выражения генотипа в фенотипе может быть очень широким. Показано, что фенотипические эффекты проявления генов могут различаться для разных рас, этнических групп одной расы, у мужчин и женщин, в контрастных возрастных группах, при воздействии разных внешних факторов (характер питания, прием лекарственных средств, уровень физической активности и т.д.). Поэтому в вычленении влияния полиморфизма конкретного гена на развитие и проявления патологического процесса существует немало проблем. Сложность состоит в том, что влияние гена, детерминируемое, с одной стороны, разными внешними и эндогенными факторами, а с другой, плейотропным эффектом его на другие гены, является не всегда однозначным при индивидуальном рассмотрении. В ряде случаев оценка влияния гена усложняется существованием различающихся в этнических группах гаплотипов, способных модифицировать фенотипический эффект изучаемого аллеля.

В этой связи ясно, что каждая конкретная популяция должна быть обследована как по характеру и уровню полиморфизма уже идентифицированных генов предрасположенности к мультифакториальным и, в частности, сердечно-сосудистым заболеваниям, так и по особенностям их фенотипического проявления. Актуальным является также увеличение информации о степени вариабельности структуры уже известных генов, а также расширение поиска генов-

кандидатов, оказывающих влияние на патологический процесс.

Решение этих задач является особо важным для населения России, учитывая многообразие ее этнического состава, сложность этногенеза различных популяций, крайне высокий уровень распространения сердечно-сосудистых заболеваний и обусловленной ими смертности. В настоящее время для популяции России информация даже о полиморфизме известных генов является достаточно ограниченной. Учитывая эти обстоятельства, и было проведено настоящее исследование, направленное на изучение ряда традиционных аспектов молекулярной эпидемиологии в контрастных этнических группах населения России, постановку новых задач в этой области медико-биологической науки и разработку адекватных для этих целей методологических подходов.

Цель работы — изучить особенности полиморфизма и связь с некоторыми факторами риска ряда известных и новых генов предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям у представителей европеоидного и монголоидного населения Северной Азии.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Получить общее представление об эволюционно-генетических связях между различными этническими группами Северной Евразии на основе анализа полиморфизма их митохондриальных генофондов.

2. Выделить наиболее контрастные в эволюционно-генетическом отношении этнические группы населения Северной Азии для проведения дальнейшего сравнительного молекулярно-эпидемиологического анализа генов предрасположенности к ССЗ.

3. Изучить уровень инсерционно-делеционного полиморфизма гена ангиотензин превращающего фермента (АПФ) и особенности его связи с показателями артериального давления (АД) в контрастных этнических группах европеоидного и монголоидного населения Северной Азии.

4. Изучить особенности уровня полиморфизма гена аполипопротеина Е (АпоЕ) и его связь с липидными показателями в контрастных этнических группах европеоидного и монголоидного населения Северной Азии.

5. Провести детальный анализ структурной вариабельности гена аполипопротеина В (АпоВ) в участке, кодирующем домен связывания с рецептором липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), в различных этнических группах Северной Азии и оценить возможную связь обнаруженных новых аллельных вариантов гена АпоВ с уровнями липидов крови.

6. Найти новые полиморфные маркеры гена-рецептора макрофаг колонии стимулирующего фактора (pMКСФ) и оценить возможную роль структурной вариабельности этого гена в формировании предрасположенности к распространенным патологическим состояниям и ее связь с факторам риска ССЗ.

7. Оценить значимость изученных показателей в формировании особенностей распространения сердечно-сосудистых заболеваний в изученных популяциях России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы. Исследования выполнены на материалах, полученных в ходе одномоментного популяционного обследования по программе “МОНИКА” (Мониторинг заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и уровней их факторов риска) в г. Новосибирске в 1994–95 гг. и экспедиционных обследований различных этнических групп населения Северной Азии.

Выборка, обследованная в г. Новосибирске, формировалась с помощью таблицы случайных чисел на основе избирательных списков. Ее размер определялся протоколом ВОЗ с учетом объема генеральной совокупности, демографической структуры конкретного центра и ежегодного количества коронарных событий. В каждой возрастной декаде (25–34 г., 35–44 г., 45–44 г., 55–64 г.) было обследовано около 200 человек каждого пола. Обследование включало фенотипическую характеристику индивидов по наличию ИБС и ее факторов риска с помощью стандартных методов (Tuomilehto et al., 1989), включающих измерение артериального давления, антропометрию, исследование липидного состава крови (ОХС, ТГ, ХС ЛПВП). Исследования по перечисленным разделам подвергались регулярному контролю качества в центрах ВОЗ в г. Хельсинки (Финляндия), г. Прага (Чехия) и лаборатории стандартизации липидных исследований ГНИИЦ ПМ МЗ РФ. Постоянно осуществлялся внутренний контроль качества.

В дополнение к основному протоколу для всех обследованных собирали информацию о национальности, месте рождения, национальности и месте рождения родителей и более отдаленных предков.

По протоколу, сходному с использованным при выполнении программы МОНИКА в Новосибирске, в 1991 г. была обследована репрезентативная выборка коренных жителей Чукотки. В выборку вошли лица чукотской и эскимосской национальностей, проживающие в поселках Лорино Чукотского района, Янракинот, Новое Чапино и Сиреники Провиденского района Чукотского автономного округа. Для всех об-

следованных были получены данные об уровнях систолического и диастолического артериального давления и липидных показателей крови.

В работе использовались аналогичные материалы и данные для выборки эскимосов Канады, полученные сотрудниками Института биохимии СО РАМН в ходе совместной российско-канадской экспедиции в поселок Иглулик (Северо-Западные территории, 69° N, 81° W).

Материалы для анализа полиморфизма мт-ДНК у представителей самодийских народностей Западной Сибири были собраны в ходе экспедиционных работ под руководством к.б.н. Осиновой Л.П. (ИЦИГ СО РАН) в 1991–1994 гг., в поселках Фарково, Советская речка (Туруханский район, Красноярский край), а также Ратта, Толька Пуровская, Толька Красноселькупская, (Красноселькупский район Тюменской области). Представители финно-угорских народностей Ханты-Мансийского автономного округа Тюменской области были обследованы в ходе экспедиции под руководством В.И. Хаснулина (ИОПЭЧ СО РАМН) в 1996 г. Образцы крови коренных жителей Республики Алтай были собраны в поселке Яконур Усть-Канского района автором в 1990 г. Большинство представителей других этнических групп коренного населения Сибири и Дальнего Востока, проанализированных в настоящем исследовании, также были обследованы автором во время различных экспедиций в 90-х годах. Для этих образцов использовали информацию о национальности, происхождении и родственных связях обследованных. Для анализа мтДНК во всех случаях брали образцы ДНК индивидов, не связанных родством, по крайней мере, в трех поколениях.

Количество индивидов, проанализированное для каждого генетического маркера, определялось текущей финансовой поддержкой исследований и трудоемкостью используемых методик. Конкретные размеры обследованных выборок приведены при изложении результатов.

Молекулярно-генетические методы. Выделение ДНК из крови проводили с помощью модифицированной фенол-хлороформной экстракции (Смит и др., 1990). Последовательность контрольного района митохондриальной ДНК анализировали путем прямого секвенирования амплифицированных в полимеразной цепной реакции фрагментов ДНК с помощью коммерческих наборов (USB, Sequenase version 2.0, DNA sequencing, kit). Подробное описание методик приведено в соответствующих разделах опубликованных работ.

Полиморфный участок 16 интрона гена АПФ амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализировали на присутствие/отсутствие Alu-элемента, используя

описанные праймеры и условия (Rigat B. et al., 1992).

Фрагмент гена АпоЕ амплифицировали с помощью ПЦР с использованием следующей пары праймеров 5'GGCGCTGATGGACGAGACCATG и 5'GCGCGCACCTCCGCCACCTGCT. Генотипирование на присутствие аллелей АпоЕ2, Е3 и Е4 проводили по модифицированной методике (Nixson et al., 1990) путем гидролиза амплифицированного фрагмента ДНК рестриктазами PstI и Avail и последующего электрофоретического разделения продуктов рестрикции в полиакриламидном геле (ПААГ).

ПЦР амплификацию фрагмента гена АпоВ проводили с помощью пары праймеров 5'ААТ-ГСТГААСТТТТТААССА и 5'АТАСААГА-ГСААССАСТТ. После гидролиза амплифицированного фрагмента рестриктазами Cspб1 и EcoRI анализ варибельности его структуры проводили с помощью анализа конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP)(Orita M. et al., 1989). Для образцов ДНК разных индивидов, имеющих различия в первичной структуре по результатам SSCP-анализа, получали одноцепочечную ДНК с помощью асимметричной ПЦР (соотношение праймеров 1:50). Одноцепочечную ДНК секвенировали с помощью коммерческих наборов (USB, Sequenase version 2.0, DNA sequencing, kit). После установления точной локализации и типа нуклеотидной замены в полиморфном сайте разработали систему быстрого генотипирования, основанную на аллельспецифической ПЦР. В системе использовали один из праймеров, применявшихся на начальном этапе анализа, и второй праймер, комплиментарный своим 3' концевым нуклеотидом соответствующему основанию ДНК каждого из обнаруженных аллельных вариантов. Детекцию аллелей осуществляли по наличию или отсутствию продуктов ПЦР с каждой парой праймеров у анализируемого индивида.

Фрагмент гена рецептора макрофаг колонии стимулирующего фактора амплифицировали в ходе ПЦР с помощью пары праймеров 5'CCСТТСТГСААГГГТТАСТГТГАГ и 5'GТТТГТАТГТТСТССССТГТГТСГС. После гидролиза полученного фрагмента рестриктазой Xho II молекулярно-генетический анализ проводили по схеме и с использованием методик, аналогичных описанным для гена АпоВ.

Статистическая обработка данных. Определение частот генотипов и аллелей, расчет генетических индексов проводили по стандартным формулам (Животовский Л.А., 1991). Соответствие частот генотипов состоянию равновесия Харди-Вайнберга оценивали с помощью критерия χ^2 . В случае малых выборок дополнительно проводили оценку с использованием модели-

рования по методу Монте-Карло (Зайкин Д.А., ИМБ ДНЦ РАН, 1992). При анализе полиморфизма митохондриальной ДНК первичную обработку нуклеотидных последовательностей и их группировки осуществляли средствами пакета прикладных программ статистического анализа SPSS 8.0. Парные внутри- и межпопуляционные нуклеотидные различия рассчитывали с помощью программы PAIRPOP (Бабенко В.Н., ИЦиГ СО РАН) и ARLEQUIN (Exfopher, 1996). Генетические дистанции между парами популяций рассчитывали на основе средних внутри- и межпопуляционных парных нуклеотидных различий по формуле, предложенной Calafell F. et al., 1996. Деревья генетических расстояний строили с помощью программ NEIGHBOR, DRAWTREE и DRAWGRAM (PHYLIP 3.5).

Статистическую обработку фенотипических признаков проводили с помощью пакета прикладных статистических программ SPSS 8.0. Оценку различий средних значений анализируемых количественных показателей между разными генотипами проводили после стандартизации по контролируемому независимым количественным и факторным переменным с помощью процедуры "GLM General Factorial". Различия в частотах номинальных переменных оценивали с помощью критерия χ^2 . Средний эффект аллелей в отношении варибельности количественных признаков оценивали по методу Sing C.F. et. al., 1985.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка особенностей эволюционно-генетических взаимоотношений между этническими группами Северной Евразии на основании анализа полиморфизма митохондриальной ДНК

Оценку эволюционно-генетических связей между различными этническими группами Северной Евразии проводили на основе анализа разнообразия их митохондриальных генофондов. Очевидно, что такая оценка должна предшествовать рассмотрению этнических особенностей полиморфизма генов, участвующих в формировании предрасположенности к распространенным заболеваниям в этих популяциях для выделения вклада адаптационной компоненты, миграционных и популяционно-генетических процессов (дрейф генов, эффект основателя). Использование в качестве генетического маркера мтДНК для решения общих эволюционно-генетических проблем в настоящее время обособлено в большом числе работ.

Полиморфизм мтДНК был изучен с помощью прямого секвенирования участка I ее контрольного района в популяциях чукчей (N=38),

азиатских эскимосов (N=22), финно-угров Западной Сибири (N=38), северных селькупов (N=24), кетов (N=10) и коренных жителей Горного Алтая (N=17). Эти представители коренного населения Северной Азии проживают в крайних западных, восточных и юго-западных областях региона. Вместе с опубликованными данными по коренным этническим группам центральных районов Сибири (Деренко М.С., 1998) они охватывают существенную часть географического ареала проживания коренного населения в азиатской части России и составляют значительную часть его этнического разнообразия.

Конкретные последовательности контрольного района мтДНК алтайцев, чукчей, эскимосов, селькупов и кетов приведены в опубликованных работах (Shields G.F. et al., 1993; Воевода М.И. и др., 1995; Казаковцева М.А., 1998). Последовательности участка I контрольного района мтДНК финно-угров Западной Сибири представлены в GenBank. На основе нуклеотидных последовательностей представителей этнических групп Евразии, полученных в настоящем исследовании и приводимых в литературе, были вычислены средние внутри- и межпопуляционные попарные нуклеотидные различия для участка мтДНК между позициями 16090 и 16365, который был проанализирован во всех сравниваемых выборках. Данные по средним попарным нуклеотидным различиям далее использовали для определения генетических дистанций между парами популяций. Полученные в результате матрицы для малочисленных народностей из различных регионов России, а также для многочисленных народов, заселяющих наиболее близкие к ним территории Европы, Восточной, Центральной и Средней Азии (русские, китайцы, монголы и казахи), приведены в табл. 1.

Из числа этнических групп коренных жителей Северной Азии максимальные генетические расстояния по отношению к популяции русских обнаружены в случае коренных жителей Чукотки. Для них же характерны относительно низкие уровни внутривнутрипопуляционного разнообразия. Можно предполагать, что вклад адапционных факторов, миграционных и популяционно-генетических процессов в формирование различий между этими двумя популяциями по уровню полиморфизма анализируемых далее генов подверженности к сердечно-сосудистым заболеваниям также является максимальным. В свою очередь это позволяет рассчитывать, что в результате сравнительного анализа русских и коренных жителей Чукотки будет охвачен наиболее широкий диапазон изменчивости изучаемых генетических маркеров для этнических групп населения России.

На основе матрицы генетических дистанций для 32 современных этнических групп Евразии

методом “ближайших соседей” было построено филогенетическое дерево генетических связей их митохондриальных генофондов (рис. 1). Общая топология генетических взаимоотношений между митохондриальными генофондами рассмотренных групп евразийцев хорошо коррелирует с границами их ареалов. На дереве можно выделить два полюса — европейский и восточный (азиатский). Между ними последовательно в направлении запад — восток располагаются популяции Ближнего Востока, Индии (брамины), Средней и Центральной Азии. Ближе всего к восточному полюсу находится популяция китайцев. От него отделяется наиболее удаленный от западного полюса кластер, объединяющий этнические группы Чукотки. Самостоятельный кластер, включающий эвенков, якутов, коряков и айнов, имеет начало на дереве в промежутке между популяциями Центральной и Восточной Азии. От западного полюса радиально расходятся ветви всех европейских и финно-угорских этнических групп. В отдельную ветвь, отходящую от этого полюса, объединены турки и болгары. Другую ветвь составляют карелы, саамы, селькупы и кеты. Вероятно, западный полюс включал предковый пул мтДНК для большинства европейских популяций и ряда неевропеоидных аборигенных этнических групп Европы и Западной Сибири. В целом данная часть филогенетического дерева характеризуется выраженной звездчатой топологией. Узкую группу составляют современные европейские популяции. Радиально, практически от одного узла с ними, расходятся финно-угорские популяции, канарцы, ближневосточные популяции, турки. От этого же узла отходит ветвь, объединяющая северных селькупов и кетов.

Наблюдаемая топология эволюционно-филогенетических связей между этническими группами Евразии может являться результатом реализации нескольких эволюционных сценариев происхождения этих групп. В одном из них ведущая роль в формировании генофондов этнических групп в регионах Центральной и Средней Азии отводится метисации между изначально полностью изолированными, независимо сформировавшимися и наиболее отдаленными друг от друга популяциями европеоидов и монголоидов [Comas, et al., 1998]. С этих же позиций большинство антропологов и генетиков в настоящее время рассматривают генезис многих современных этнических групп Восточной Европы и Сибири. Другой сценарий предполагает последовательное расселение человека из Юго-Восточной Азии в западные и северные районы континента с формированием в ходе этого процесса современных европеоидов [Mountain, et al., 1995]. Такой вариант эволюции популяции евразийцев обосновывается результатами фило-

Матрицы средних попарных внутри- и межпопуляционных нуклеотидных различий и генетических дистанций между некоторыми этническими группами Евразии

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | |
|-----------------|---|------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--|
| | Средние внутри- и межпопуляционные попарные нуклеотидные различия | | | | | | | | | | | | | | |
| Алтайцы | 5,52 | | | | | | | | | | | | | | |
| Кеты | 5,06 | 4,04 | | | | | | | | | | | | | |
| Коряки | 7,02 | 6,47 | 4,77 | | | | | | | | | | | | |
| Монголы | 5,99 | 5,57 | 7,17 | 6,27 | | | | | | | | | | | |
| Селькупы | 4,87 | 3,94 | 6,29 | 5,38 | 3,76 | | | | | | | | | | |
| Финно-угры З.С. | 5,13 | 4,35 | 6,8 | 5,53 | 4,17 | 3,97 | | | | | | | | | |
| Эскимосы Азии | 6,67 | 6,75 | 8,16 | 6,97 | 6,80 | 6,88 | 3,58 | | | | | | | | |
| Чукчи | 6,49 | 6,39 | 7,69 | 6,79 | 6,35 | 6,61 | 4,11 | 4,42 | | | | | | | |
| Эвены | 7,18 | 6,84 | 6,08 | 7,64 | 6,65 | 7,15 | 8,55 | 8,20 | 6,05 | | | | | | |
| Якуты | 6,59 | 6,08 | 5,81 | 6,96 | 5,94 | 6,28 | 7,75 | 7,56 | 6,17 | 5,48 | | | | | |
| Казахи | 6,11 | 5,60 | 7,47 | 6,41 | 5,39 | 5,39 | 7,21 | 7,03 | 7,92 | 7,16 | 6,44 | | | | |
| Китайцы | 6,52 | 6,15 | 7,84 | 6,72 | 5,94 | 6,03 | 7,03 | 7,00 | 8,01 | 7,43 | 6,84 | 6,79 | | | |
| Русские | 5,25 | 4,32 | 6,95 | 5,73 | 4,13 | 4,02 | 7,31 | 6,97 | 7,28 | 6,45 | 5,53 | 6,22 | 4,00 | | |
| Финно-угры Пов. | 8,79 | 7,83 | 10,5 | 9,27 | 7,66 | 7,50 | 10,8 | 10,4 | 10,8 | 9,94 | 9,03 | 9,76 | 7,42 | 10,6 | |
| Кеты | 1,28 | Генетические дистанции | | | | | | | | | | | | | |
| Коряки | 2,88 | 3,06 | | | | | | | | | | | | | |
| Монголы | 1,09 | 1,41 | 2,65 | | | | | | | | | | | | |
| Селькупы | 1,23 | 1,04 | 3,02 | 1,36 | | | | | | | | | | | |
| Финно-угры З.С. | 1,38 | 1,34 | 3,43 | 1,41 | 1,30 | | | | | | | | | | |
| Эскимосы Азии | 3,12 | 3,94 | 4,98 | 3,04 | 4,13 | 4,10 | | | | | | | | | |
| Чукчи | 2,52 | 3,16 | 4,09 | 2,44 | 3,26 | 3,41 | 1,11 | | | | | | | | |
| Эвены | 2,39 | 2,79 | 1,67 | 2,48 | 2,74 | 3,14 | 4,73 | 3,96 | | | | | | | |
| Якуты | 2,09 | 2,32 | 1,68 | 2,08 | 2,32 | 2,55 | 4,22 | 3,61 | 1,40 | | | | | | |
| Казахи | 1,13 | 1,36 | 2,86 | 1,05 | 1,29 | 1,36 | 3,20 | 2,60 | 2,67 | 2,2 | | | | | |
| Китайцы | 1,36 | 1,73 | 1,86 | 1,19 | 1,66 | 1,65 | 2,84 | 2,39 | 2,59 | 2,29 | 1,22 | | | | |
| Русские | 1,49 | 1,30 | 3,56 | 1,59 | 1,25 | 1,03 | 4,52 | 3,76 | 3,25 | 2,71 | 1,31 | 1,82 | | | |
| Финно-угры Пов. | 1,69 | 1,47 | 3,77 | 1,79 | 1,44 | 1,17 | 4,67 | 3,93 | 3,49 | 2,86 | 1,47 | 2,02 | 1,08 | | |

Примечание. В верхней матрице по диагонали приведены значения внутривнутрипопуляционных попарных нуклеотидных различий.

генетического анализа последовательностей мтДНК и более высоким уровнем их внутривнутрипопуляционного разнообразия в восточно-азиатских популяциях по сравнению с европейскими.

Источники данных к табл. 1 и рис. 1.

Алтайцы — Shields G.F. et al., 1993; кеты, селькупы — Казаковцева М.А., 1998; коряки, эвены, якуты — Деренко М.В. и др., 1997; монголы — Kolman S. et al., 1996; финно-угры Западной Сибири — Воевода М.И., Шкапенко А.Л., неопубликованные данные; эскимосы Азии, чукчи — Воевода М.И. и др., 1994; казахи, киргизы горные, киргизы равнинные, уйгуры — Comas D. et al., 1998; китайцы, корейцы, айны — Horai S. et al., 1996; русские — Orekhov V. et al., 1999; русские [2] — Малярчук Б.А., 1997; карелы, финно-угры Поволжья, Северная Европа, саамы — Sajantila A. et al., 1995; испанцы, баски, немцы — Richards M. et al. 1996; тур-

ки, болгары — Calafell F., et al., 1996; Ближний Восток — Di Rienzo A. et al., 1991; канарцы; индусы-мукри, индусы-хавик — Mountain J. et al., 1995.

На основании сравнительного анализа полиморфизма мтДНК евразийцев, проведенного в настоящей работе, можно предполагать, что носители всех расовых типов Евразии произошли из единой протопопуляции, расположенной предположительно в регионе Средней и Центральной Азии. Близкая точка зрения высказывалась российским антропологом В.В. Бунаком [1956, 1974], который считал, что антропологические особенности современных финно-угров, совмещающие в себе черты как монголоидов, так и европеоидов, — не результат метисации, а следствие наследования протоморфных антропологических свойств индивидуумов древней протопопуляции.



Рис. 1. Дерево филогенетических связей между современными этническими группами Евразии по результатам анализа разнообразия их митохондриальных генофондов

Для более углубленного обоснования этой точки зрения следует обратить внимание на тот факт, что внутрипопуляционное разнообразие мтДНК примерно одинаково в Восточной Азии, ряде европеоидных популяций, а также в Центральной Азии (монголы – 6,27, казахи – 6,44, айны – 6,63, китайцы – 6,79, корейцы – 7,78, финно-угры Поволжья – 10,66, Ближний Восток – 6,88). Следовательно, этот критерий не дает оснований предполагать, что наибольший возраст эволюции разнообразия мтДНК характерен исключительно для популяций Восточной Азии. Наглядное представление об эволюционных механизмах формирования митохондриальных генофондов конкретных популяций может дать детальное рассмотрение генезиса отдельных доминирующих в них митотипов. Митотипы или гаплогруппы контрольного района мтДНК определяются характерными сочетаниями определенных нуклеотидов в его полиморфных позициях. В частности, в популяции чукчей и эскимосов наиболее представлены митотипы, имеющие сочетание транзиций относительно Кембриджской последовательности в позициях 16111, 16192, 16223, 16290 и 16319 (рис. 2).

Доля таких митотипов для чукчей составляет 41,7 % и для эскимосов 55,6 %. При этом данное сочетание транзиций не встречается больше ни в одной из обследованных этнических групп Евразии. Рассмотрение представленности в популяциях Евразии митотипов, имеющих сочетание только четырех из пяти вышеуказанных транзиций, показало, что реально присутствуют

два варианта сочетаний, а именно 16111, 16223, 16290, 16319 и 16192, 16223, 16290, 16319. Первый из этих митотипов является вторым по распространенности в популяции коренных жителей Чукотки и также встречается у коряков (чукчи – 23,3 %, эскимосы – 17,2 %, коряки – 5,9 %). Второй митотип был обнаружен только у одного эвена. Очевидно, что два распространенных в популяции коренных жителей Чукотки митотипа эволюционно родственны. Если продолжить анализ далее и рассмотреть распространенность митотипов, имеющих различные сочетания трех из пяти характеристичных для чукчей транзиций, то оказывается, что из 10 теоретически возможных реально в Евразии обнаружены только последовательности, имеющие сочетание транзиций в позициях 16223, 16290, 16319. Такие варианты выявлены у айнов – 3,9 %, эвенов – 3,1 %, китайцев – 77 %, корейцев – 3,1 %, монголов – 2,9 %, уйгуров – 7,3 %, казахов – 9,3 %, киргизов – 6,3 % и на Ближнем Востоке – 2,7 %. Следовательно, учитывая географическую распространенность рассмотренных митотипов, наиболее вероятно, что митотип 16111Т, 16192Т, 16223Т, 16290Т, 16319А произошел в результате транзиций 16111 из митотипа 16192Т, 16223Т, 16290Т, 16319А, который в свою очередь является дериватом митотипа 16223Т, 16290Т, 16319А. Из приведенных выше данных следует, что наибольшая частота самого предкового варианта отмечается в этнических группах Средней Азии и в меньшей степени – у китайцев. Внутрипопуляционные

| | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | |
|--------------|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11223 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | |
| 19291 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 7 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 9 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 | 7 | 9 | 0 | 1 | 1 | 3 | 5 | 6 |
| 12309 | № | 1 | 6 | 4 | 6 | 6 | 2 | 3 | 7 | 8 | 9 | 2 | 0 | 3 | 4 | 5 | 2 | 9 | 6 | 5 | 1 | 8 | 0 | 0 | 1 | 9 | 5 | 6 | 2 |
| <u>TTTTA</u> | | C | T | C | C | C | A | A | C | S | T | C | A | C | C | A | C | T | C | A | T | C | C | A | T | G | A | T | T |
| Эскимосы | 1 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | C | . | T | . | . | A | . | . | C |
| Чукчи | 1 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | C | A | . | . | C |
| Чукчи | 2 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | C | A | . | . | . |
| 1* | 33 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | C |
| Чукчи | 1 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | . |
| Эскимосы | 1 | T | . | . | . | T | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | C |
| Чукчи | 1 | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | C |
| <u>TCTTA</u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Коряки | 2 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | C | . | T | . | . | . | . | G | . | . | T | G | . | A | . | . | . | C | |
| Чукчи | 1 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | C |
| Чукчи | 4 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | G | . | . | T | . | . | . | A | . | . | C | |
| Чукчи | 1 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | G | . | . | T | . | . | . | A | . | . | . | |
| Чукчи | 1 | T | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | G | . | . | T | . | . | . | A | . | . | C | |
| <u>STTTA</u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Эвены | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | G | . | A | . | . | . | C |
| <u>SSTTA</u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Китайцы | 1 | . | C | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | G | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | . | . |
| Китайцы | 1 | . | C | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | . | . |
| Казахи | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | C | . | T | . | . | . | . | C | . | . | T | . | . | A | . | C | C | . | . |
| Киргизы | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | C | . | T | . | . | . | . | C | . | . | T | . | . | A | . | C | . | . | . |
| Киргизы | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | C | . | T | . | . | . | . | T | . | . | T | . | . | A | . | C | C | . | . |
| Монголы | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | C | . | . | . | T | . | . | A | . | C | . | . | . |
| 2* | 5 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | C | . | . | . |
| 3* | 2 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | . | . | . |
| Уйгуры | 2 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | G | . | C | . | . |
| Монголы | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | T | . | . | . | T | . | . | A | . | C | . | . | . |
| Айны | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | . | . | . |
| Эвены | 2 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | T | G | . | A | . | . | . | . | . |
| Казахи | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | T | . | . | . | . | . | T | T | . | A | . | . | . | . | . |
| Уйгуры | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | G | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | C | . | . | . |
| Казахи | 1 | . | . | . | . | . | T | C | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | C | C | . | . |
| Корейцы | 2 | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | . | . | . |
| Киргизы | 1 | . | . | . | . | . | C | . | C | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | C | . | . | . |
| Казахи | 1 | . | . | . | . | C | C | . | C | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | T | . | A | . | . | . | . | . |
| Китайцы | 1 | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | A | . | . | . | . | C |
| <u>SSTCA</u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4* | 3 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | A | . | . | . | . | C |
| <u>SSTTG</u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Чукчи | 1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . |

Рис. 2. Наиболее представленные минотипы коренных жителей Чукотки и эволюционно связанные с ними минотипы евразийцев.

1* – эскимосы (n = 22), чукчи (n = 11), 2* – айны, китайцы, монголы, казахи, киргизы, 3* – уйгуры, Ближний Восток, 4* – эскимосы (n = 2), чукчи (n = 1). Нумерация сверху рисунка соответствует Кембриджской последовательности, начиная с 16000 позиций

парные нуклеотидные различия между последовательностями ДНК, относящимися к этому митотипу, в популяциях Восточной и Средней Азии имеют значения 2,60 и 3,21 соответственно, что также в большей степени указывает на среднеазиатское происхождение предкового варианта. Вероятно, далее он распространился в Восточную Азию, и затем носители его дериватов сыграли существенную роль в формировании митохондриального генофонда арктических

монголоидов. Следует отметить, что в настоящее время и у чукчей, и у эскимосов встречаются митотипы, отличающиеся от наиболее частого, имеющего пять характеристических транзиций, по трем из них, а от предкового – по одной (16111C, 16192C, 16223T, 16290C, 16319A и 16111C, 16192C, 16223T, 16290T, 16319G). Первый из них распространен на всей территории Евразии от Европы до Восточной Азии, а второй только у монголоидов. По-видимому, пер-

вый является еще более предковым, а второй его дериватом. Это обстоятельство означает, что в генофонде ближайших предков арктических монголоидов присутствовали самые древние евразийские митотипы. Высокая представленность у коренных жителей Чукотки наиболее молодого митотипа 16111Т, 16192Т, 16223Т, 16290Т, 16319А свидетельствует, что их популяция относительно недавно прошла через этап “бутылочного горлышка”, приведшего к экспансии самых молодых вариантов. Некоторое представление о хронологии эволюционных этапов можно получить при сравнении частоты транзиции 16362 у разных митотипов. Как следует из рис. 2, очевидно, что она является результатом параллельных мутационных событий, и предковый митотип 16223Т, 16290Т, 16319А характеризовался присутствием С в позиции 16362. Такой вариант действительно является наиболее частым для этого митотипа. Доля замен С на Т является наименьшей для самого распространенного на Чукотке и самого молодого митотипа 16111Т, 16192Т, 16223Т, 16290Т, 16319А – 7,5 %. Для митотипов 16192Т, 16223Т, 16290Т, 16319Аи 16223Т, 16290Т, 16319А она составляет 11,8 и 40,1 % соответственно. Если исходить из полученной нами ранее оценки времени дивергенции наиболее молодого митотипа 9 тыс. лет (Иванова А.В., 1993), то для двух других она составит 13,3 и 48 тыс. лет соответственно. Наша временная оценка происхождения самого древнего из рассмотренных митотипов согласуется с временем дивергенции других митотипов в популяциях Евразии. Таким образом, мы полагаем, что данные анализа генезиса митотипа, специфически представленного у арктических монголоидов, свидетельствуют в пользу существования среднеазиатского центра формирования монголоидной расы.

Рассмотрим с другой стороны распространенность основных митотипов мтДНК, ранее выделенных у европейцев (Richards M., et al., 1996), в окружающих их аборигенных популяциях Евразии. Как видно из табл. 2, практически все гаплогруппы европейцев, за исключением ill, действительно чаще встречаются в Европе, чем у монголоидов, а популяция Средней Азии характеризуется их промежуточной представленностью. Однако максимальные частоты большинства гаплогрупп обнаруживаются не у европейцев, а в различных, граничащих с ними этнических группах. Так, гаплогруппа I максимально распространена у северных селькупов и карел, гаплогруппа IIa – в целом на Ближнем Востоке и финно-угров Поволжья, гаплогруппа IIb – у финно-угров Поволжья и гаплогруппа V – у кетов и саамов. Учитывая, что современные европейские популяции характеризуются выраженным сходством частот основных гап-

логрупп, представляется маловероятным, что их распространение в финно-угорских и западно-сибирских этнических группах является следствием метисации. В этом случае их частоты, как правило, были бы не выше, чем у европейцев. Для этих популяций, как и в случае аборигенов Чукотки, более вероятно действие эффектов основателя и относительной изоляции, приведших к фиксации определенных гаплогрупп. Следует также отметить более высокую частоту распространенных в популяциях монголоидов митотипов III, в этнических группах, окружающих европейцев от Канарских островов и Ближнего Востока до Западной Сибири, и финно-угров. При этом наблюдается постепенный географический градиент падения ее частоты в направлении восток–запад. Показательным является также тот факт, что в случае митогруппы II европейцев, максимально различающей их с монголоидами, наибольший уровень нуклеотидного разнообразия отмечается на Ближнем Востоке и в Средней Азии (средние внутривидовые попарные нуклеотидные различия 5,88 и 5,15 соответственно, против максимального у европейцев – 4,13). Таким образом, на основании приведенных данных можно заключить, что этнические группы европейцев, финно-угров и народностей Западной Сибири наиболее вероятно сформировались в результате дивергенции из единого центра локализованного в регионе, включающего Среднюю Азию и Ближний Восток. Учитывая относительно более низкие уровни внутривидового нуклеотидного разнообразия последовательностей контрольного района мтДНК европейцев, финно-угров и самодийцев, можно предполагать, что их формирование является достаточно поздним этапом этногенеза современного населения Евразии.

Полученные в последние годы данные о распространении в Евразии ряда специфических для европейцев ядерных генетических маркеров также подтверждают происхождение этих этнических групп от единого ствола после изоляции от остальной части евразийцев. Как и в случае ряда европеоидных гаплогрупп мтДНК, которые наиболее представлены в финно-угорских популяциях, в них также с более высокой частотой по сравнению со многими европейскими популяциями встречается аллель гена хемокинового рецептора CCR5 с делецией в 32 нп. Это наблюдение было впервые зафиксировано нами (Yudin et al., 1998) при сравнении с данными распространения этого аллеля в других популяциях (Martinson J. et al., 1997).

Не претендуя на раскрытие всех деталей эволюционного процесса формирования современной популяции евразийцев его общая схема представляется следующим образом. На начальном этапе существовала единая недифференциро-

**Распространенность митогрупп контрольного района митохондриальной ДНК европейцев
в различных этнических группах Евразии**

| Популяция и этническая группа | Гаплогруппа | | | | | | | |
|-------------------------------|-------------|------|------|------|------|------|-----|------|
| | I* | II | IIa | IIb | III | IIIa | IV | V |
| Восточная Азия | 21,7 | 4,6 | 0,0 | 0,7 | 54,6 | 16,4 | 0,7 | 1,3 |
| Чукчи | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 78,6 | 21,4 | 0,0 | 0,0 |
| Эскимосы | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 79,8 | 20,2 | 0,0 | 0,0 |
| Коряки | 5,9 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 73,5 | 20,6 | 0,0 | 0,0 |
| Эвены | 1,5 | 12,3 | 1,5 | 0,0 | 46,2 | 38,5 | 0,0 | 0,0 |
| Якуты | 9,6 | 9,5 | 9,5 | 0,0 | 61,9 | 9,5 | 0,0 | 0,0 |
| Монголы | 29,0 | 3,9 | 0,0 | 1,0 | 53,4 | 11,7 | 1,0 | 0,0 |
| Средняя Азия | 33,3 | 6,4 | 2,5 | 2,9 | 44,1 | 8,3 | 1,0 | 1,5 |
| Селькупы | 62,5 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 25,0 | 8,3 | 0,0 | 4,2 |
| Кеты | 30,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 40,0 | 0,0 | 0,0 | 30,0 |
| Финно-угры Зап. Сиб. | 39,5 | 21,1 | 2,6 | 10,5 | 15,8 | 2,6 | 2,6 | 5,3 |
| Финно-угры Пов. | 26,5 | 29,4 | 14,7 | 11,8 | 0,0 | 2,9 | 2,9 | 11,8 |
| Карелы | 45,8 | 13,3 | 3,6 | 7,2 | 7,2 | 2,4 | 2,4 | 18,1 |
| Саамы | 42,6 | 6,1 | 0,0 | 0,0 | 6,1 | 5,2 | 0,0 | 40,0 |
| Финны | 41,6 | 13,9 | 4,0 | 5,1 | 10,1 | 6,3 | 5,1 | 13,9 |
| Русские | 38,7 | 21,4 | 7,8 | 11,7 | 5,8 | 1,0 | 4,9 | 8,7 |
| Европейцы | 42,5 | 20,1 | 9,0 | 8,8 | 4,8 | 1,9 | 6,3 | 6,6 |
| Ближний Восток | 13,0 | 34,1 | 16,7 | 9,1 | 14,8 | 5,7 | 2,3 | 4,3 |
| Канарцы | 38,7 | 16,7 | 3,7 | 9,3 | 16,7 | 0,0 | 1,9 | 13,0 |

Примечание. К митогруппе II относятся митотипы, имеющие транзицию относительно Кембриджской последовательности в позиции 16126. В ней выделяют гаплогруппу IIa (транзициями 16069 и 16126) и гаплогруппу IIb (транзициями 16126 и 16294). Гаплогруппа III определяется транзицией 16223. В этой гаплогруппе дополнительно выделяется кластер IIIa (транзициями в позициях 16129 и 16223). Гаплогруппа IV определяется транзициями 16224 и 16311, а гаплогруппа V транзицией 16270. Митогруппа I включает Кембриджскую последовательность и другие митотипы, не имеющие характеристических для других митогрупп замен.

ванная в генетическом отношении протопопуляция, предположительно в регионе Передней и Средней Азии. Постепенно в процессе расширения ареала ее обитания происходило изменение концентрации определенных митотипов на западном и восточном полюсах с сохранением наиболее предкового состояния в исходном регионе. Далее в процессе экспансии на восток произошло формирование монголоидов и специфики их митохондриального генофонда. Аналогичным образом выделилась популяция Переднего и Ближнего Востока. На более поздних этапах от относительно узкого корня сформировались современные европейцы, финно-угры и самодийцы Западной Сибири. При этом в их исходной популяции частично сохранялся характерный для предковой популяции градиент частот определенных митотипов, обусловивший современное промежуточное генетическое положение финно-угров и самодийцев между европеоидами и монголоидами. Это промежуточное состояние, вероятно, является наиболее

близким к состоянию генофонда первичной протопопуляции.

Таким образом, как следует из проведенного рассмотрения, сравнительный анализ полиморфизма генов предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям в популяциях русского населения г. Новосибирска и коренных жителей Чукотки позволяет охватить практически весь эволюционный диапазон его формирования в Северной Евразии. Вероятнее всего, все остальные этнические группы региона в этом отношении занимают промежуточное положение.

Полиморфизм некоторых генов наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям и его связь с их факторами риска в этнических группах Северной Азии

Из числа проанализированных в настоящей работе ядерных генов два локуса – гены АПФ и АпоЕ – интенсивно изучены в популяциях многих регионов планеты, как в отношении уров-

ния полиморфизма, так и его связи с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. Они относятся к числу наиболее охарактеризованных генов-кандидатов наследственной предрасположенности к целому ряду сердечно-сосудистых заболеваний. Молекулярно-эпидемиологическая изученность полиморфизма этих генов в этнических группах России достаточно ограничена. В связи с этим были получены оценки частот их наиболее распространенных аллельных вариантов и генотипов для типичных представителей европеоидного и монголоидного населения России и оценены их ассоциации с некоторыми факторами риска ССЗ.

В случае гена ApoB, также входящего в перечень известных генов-кандидатов заболеваний атеросклеротического генеза, исходно была поставлена задача детального изучения вариабельности его участка, кодирующего сайт связывания с рецептором ЛПНП, в различных этнических группах населения Сибири для поиска новых функционально значимых аллельных вариантов.

Четвертый проанализированный локус – ген pMКСФ – кодирует рецептор, являющийся ключевым звеном в регуляции пролиферации и дифференцировки моноцит/макрофагов, выполняющих важные функции при хронических воспалительных процессах, к которым в настоящее время относится и атеросклероз. Данный ген можно рассматривать как типичный представитель нового класса генов-кандидатов атеросклеротических заболеваний – генов, контролирующих функции и жизнедеятельность макрофагов. В случае гена pMКСФ нами был обнаружен новый полиморфный маркер в нем и проведен

полный цикл начальных молекулярно-эпидемиологических исследований.

Полиморфизм гена АПФ и его связь с уровнем артериального давления в популяциях мужчин г. Новосибирска и коренных жителей Чукотки

В случае гена АПФ изучали полиморфизм, обусловленный присутствием/отсутствием Alu-элемента в 16 интроне гена (I и D аллели соответственно). В европеоидной популяции мужчин г. Новосибирска обследована выборка из 603 человек, включающая представителей четырех последовательных возрастных десятилетий (от 25 до 64 лет).

Параметры, характеризующие уровень анализируемого полиморфизма в мужской популяции г. Новосибирска, приведены в табл. 3. В обследованной выборке в целом отмечено некоторое преобладание аллеля D. Соответственно отмечается более высокая частота генотипа D/D по сравнению с I/I. Наиболее частым является генотип I/D. Соотношение частот генотипов соответствует равновесию Харди–Вайнберга. Небольшие величины ошибок частот позволяют заключить, что получены достаточно надежные оценки уровня полиморфизма гена АПФ для представителей европеоидного населения России.

Объем обследованной выборки позволил рассмотреть динамику изменения частот генотипов и аллелей на возрастном интервале от 25 до 64 лет. Для генов, полиморфизм которых ассоциирован с заболеваниями, вносящими существенный вклад в смертность населения, следует ожидать изменения частот генотипов и аллелей в

Таблица 3

Частоты генотипов и аллелей Alu-инсерционного полиморфизма гена АПФ в популяции мужчин г. Новосибирска

| | 25–34 года | 35–44 года | 45–54 года | 55–64 года | Все мужчины |
|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ |
| Генотипы | | | | | |
| I/I | 0,234(0,044) <i>n</i> = 22 | 0,238(0,032) <i>n</i> = 43 | 0,183(0,030) <i>n</i> = 30 | 0,213(0,032) <i>n</i> = 35 | 0,216(0,017) <i>n</i> = 130 |
| I/D | 0,532(0,051) <i>n</i> = 50 | 0,536(0,037) <i>n</i> = 97 | 0,555(0,039) <i>n</i> = 91 | 0,470(0,039) <i>n</i> = 77 | 0,522(0,020) <i>n</i> = 315 |
| D/D | 0,234(0,044) <i>n</i> = 22 | 0,226(0,031) <i>n</i> = 41 | 0,262(0,034) <i>n</i> = 43 | 0,317(0,036) <i>n</i> = 52 | 0,262(0,016) <i>n</i> = 158 |
| Аллели | | | | | |
| I | 0,500(0,036) | 0,506(0,027) | 0,460(0,025) | 0,448(0,025) | 0,477(0,014) |
| D | 0,500 | 0,494 | 0,540 | 0,552 | 0,523 |
| Показатели соответствия равновесию Харди–Вайнберга | | | | | |
| χ^2 | 0,383 | 0,937 | 2,236 | 0,423 | 1,333 |
| $p_{ХВ}$ | 0,703 | 0,356 | 0,172 | 0,518 | 0,254 |

Примечание. I – аллель с инсерцией Alu-элемента, D – аллель без Alu-элемента, I/I, I/D, D/D – соответствующие генотипы. Здесь и далее в таблицах *p* – частота, *S_p* – ошибка частоты, *n* – число индивидов, χ^2 – хи-квадрат, $p_{ХВ}$ – вероятность соответствия наблюдаемого распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга.

старших возрастных группах по отношению к более молодым. В обследованной выборке в возрасте 25–34 лет и 35–44 лет частоты обоих аллелей (I и D) близки к 50 %. Распределение частот генотипов с высокой степенью достоверности соответствует равновесию Харди–Вайнберга. В последующих двух возрастных декадах отмечается некоторое уменьшение частоты аллеля I и возрастание частоты аллеля D. Наблюдается последовательное возрастание частоты генотипа D/D. При этом во всех декадах сохраняется равновесие Харди–Вайнберга. В старшей возрастной группе частота генотипа I/I уменьшилась на 8,8 % по сравнению с самой молодой, генотипа I/D на 11,7 %, а генотипа D/D возросла на 35,5 %. Разница в частотах генотипа D/D между выборкой мужчин моложе 50 лет (23,0 %) и 50 лет и старше (31,2 %) статистически достоверна ($\chi^2 = 5,091$, $p = 0,024$).

Полученные данные позволяют заключить, что в популяции мужчин г. Новосибирска с увеличением возраста наблюдается изменение частот генотипов и аллелей Alu-инсерционного полиморфизма гена АПФ. Происходит снижение частоты аллеля I и соответствующих генотипов и возрастание частоты аллеля D и его гомозиготного генотипа.

Параметры анализируемого полиморфизма гена АПФ в популяции коренных жителей Чукотки приведены в табл. 4. В обследованной выборке в целом отмечается преобладание частоты аллеля I и соответствующих ему генотипов. Наиболее высокой является частота гомозиготного генотипа I/I. Распределение частот генотипов находится в равновесии Харди–Вайнберга. Отмечаются различия в частоте аллелей и гомозиготных генотипов между мужчинами и женщинами. У женщин выше частота аллеля D и генотипа D/D. Однако разница в частотах генотипов между полами не достигает уровня ста-

стистической значимости ($\chi^2 = 1,640$, $p = 0,440$). Таким образом, частота аллеля D в популяции коренных жителей Чукотки в целом существенно ниже, чем в популяции мужчин г. Новосибирска, и преобладающим является гомозиготный генотип I/I, в то время как в Новосибирске – гетерозиготный генотип I/D.

Важная функциональная роль АПФ в ренин-ангиотензиновом звене гомеостаза обусловила особое внимание к изучению связи полиморфизма его гена с уровнем артериального давления и артериальной гипертензией. Результаты исследований в разных популяциях и этнических группах существенно различаются. В настоящей работе анализируемые показатели, характеризующие уровень артериального давления, включали систолическое (АДС), диастолическое (АДД) и пульсовое артериальное давление (ПАД). Оценку различий средних значений между генотипическими классами проводили в рамках общей линейной модели, процедуры общего факторного анализа пакета прикладных статистических программ SPSS (General Factorial procedure, General Linear Model). Для популяции мужчин г. Новосибирска в качестве независимой факторной переменной выступал генотип АПФ и в качестве независимых количественных переменных – возраст, рост и вес. Для популяции коренного населения Чукотки независимые факторные переменные включали генотип АПФ и пол, а независимая количественная переменная была представлена возрастом обследованных. Результаты анализа приведены в табл. 5.

У мужчин г. Новосибирска обнаружена статистически значимая связь с возрастом, весом и ростом для АДС и АДД. Ни для одного показателя не выявлено независимого влияния генотипа гена АПФ на его уровень. Таким образом, в популяции г. Новосибирска не обнаружено значимой связи полиморфизма гена АПФ с

Таблица 4

Частоты генотипов и аллелей Alu-инсерционного полиморфизма гена АПФ в популяции коренных жителей Чукотки

| Генотип | Мужчины | Женщины | Оба пола |
|-----------------|--|-----------------------|-----------------------|
| | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ |
| | Генотипы | | |
| I/I | 0,541(0,082) $n = 20$ | 0,462(0,069) $n = 24$ | 0,494(0,053) $n = 44$ |
| I/D | 0,378(0,080) $n = 14$ | 0,365(0,067) $n = 19$ | 0,371(0,051) $n = 33$ |
| D/D | 0,081(0,045) $n = 3$ | 0,173(0,052) $n = 9$ | 0,135(0,036) $n = 12$ |
| | Аллели | | |
| I | 0,730(0,052) | 0,644(0,047) | 0,680(0,035) |
| D | 0,270(0,052) | 0,356(0,047) | 0,320(0,035) |
| | Показатели соответствия равновесию Харди–Вайнберга | | |
| χ^2 | 0,061 | 2,140 | 1,958 |
| $P_{\text{ХВ}}$ | 1,000 | 0,207 | 0,216 |

Стандартизованные средние уровни показателей артериального давления для разных генотипов гена АПФ в мужской популяции г. Новосибирска

| Генотип | АДС (мм рт. ст.) | АДД (мм рт. ст.) | ПАД (мм рт. ст.) | n |
|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----|
| | X(S _x) | X(S _x) | X(S _x) | |
| Новосибирск (мужчины) | | | | |
| I/I | 134,8 (1,8) | 86,0 (1,0) | 48,8 (1,3) | 130 |
| I/D | 134,5 (1,2) | 86,8 (0,7) | 47,6 (0,8) | 315 |
| D/D | 135,1 (1,7) | 86,5 (0,9) | 48,7 (1,2) | 158 |
| Возраст(P) | 0,000* | 0,000* | 0,000* | |
| Вес(P) | 0,000* | 0,000* | 0,037* | |
| Рост(P) | 0,001* | 0,001* | 0,038* | |
| Генотип(P) | 0,931 | 0,794 | 0,623 | |
| Чукотка | | | | |
| Мужчины | | | | |
| I/I | 112,9(4,2) | 72,1 (2,5) | 40,8 (2,7) | 20 |
| I/D | 121,7(5,0) | 72,4 (3,0) | 49,3 (3,2) | 14 |
| D/D | 108,9(10,9) | 72,9 (6,5) | 36,0 (7,0) | 3 |
| Женщины | | | | |
| I/I | 119,9(4,0) | 72,7 (2,4) | 47,2 (2,6) | 23 |
| I/D | 126,1 (4,4) | 73,7 (2,7) | 52,4 (2,8) | 19 |
| D/D | 132,6(1,7) | 86,6 (0,9) | 42,0 (4,2) | 8 |
| Возраст(P) | 0,206 | 0,736 | 0,099 | |
| Пол(P) | 0,092 | 0,248 | 0,122 | |
| Генотип(P) | 0,217 | 0,491 | 0,013* | |

Примечание. Здесь и далее в аналогичных таблицах X – средняя арифметическая, стандартизованная на средние значения независимых переменных; S_x – ошибка средней арифметической, n – число индивидов, Показатель (P) – уровень статистической значимости данного фактора в общей факторной модели, * Указывает на статистически значимый вклад фактора.

уровнем артериального давления. В случае артериальной гипертензии, определенной по скорректированным по возрасту и индексу массы тела уровням АДС и АДД, отмечается увеличение частоты диастолической гипертонии в ряду генотипов I/I, I/D, D/D (23,8, 25,7 и 32,9 % соответственно). Однако этот эффект не достигает уровня статистической значимости ($\chi^2 = 3,693$, $p = 0,158$).

В популяции коренных жителей Чукотки ни одна из независимых переменных не была значимо связана с показателями АДС и АДД. В случае пульсового давления обнаружен достоверный эффект генотипа гена АПФ. Генотипические различия в популяции определяют до 12 % фенотипической вариабельности этого показателя. В обеих половых группах наблюдается повышение пульсового давления у гетерозигот I/D по сравнению с обоими гомозиготными классами. Различия выражены больше у мужчин. Аналогичная зависимость, хотя и не достигающая статистической значимости, наблю-

дается для систолического артериального давления. Таким образом, в обследованной выборке коренных жителей Чукотки обнаружена связь генотипа гена АПФ с уровнем пульсового давления. Ранее аналогичный стенотипический эффект в литературе описан не был.

Частоты аллелей гена АПФ в двух этнических группах Сибири в сопоставлении с данными по аборигенным популяциям различных регионов земного шара приведены на рис. 3. Показатели, полученные при анализе мужской популяции г. Новосибирска, соответствуют данным для европеоидных популяций Западной Европы. В большинстве из них отмечается небольшое преобладание частоты аллеля D (от 50 до 60 %). Уровень полиморфизма гена АПФ у коренных жителей Чукотки сходен с наблюдаемым в монголоидных популяциях Восточной и Юго-Восточной Азии и у аборигенов Нового Света. В целом, в масштабе планеты относительное положение обеих обследованных этнических групп России соответствует отчетливому

градиенту частот аллелей гена АПФ, проявляющемуся увеличением частоты аллеля I и уменьшением частоты аллеля D, в ряду популяций: негроидные популяции Африки – европеоидные – популяции Восточной Азии, аборигены Нового Света, Новой Гвинеи и Австралии.

Характеризуя возрастные особенности полиморфизма гена АПФ у жителей г. Новосибирска, отметим, что в настоящее время данные по систематическому изучению изменений частот его аллелей и генотипов в популяциях с возрастом в отечественной и зарубежной литературе отсутствуют. В Новосибирске частоты аллелей и генотипов в двух более молодых возрастных группах близки к обнаруженным в выборках детей в других европеоидных популяциях. Так, у

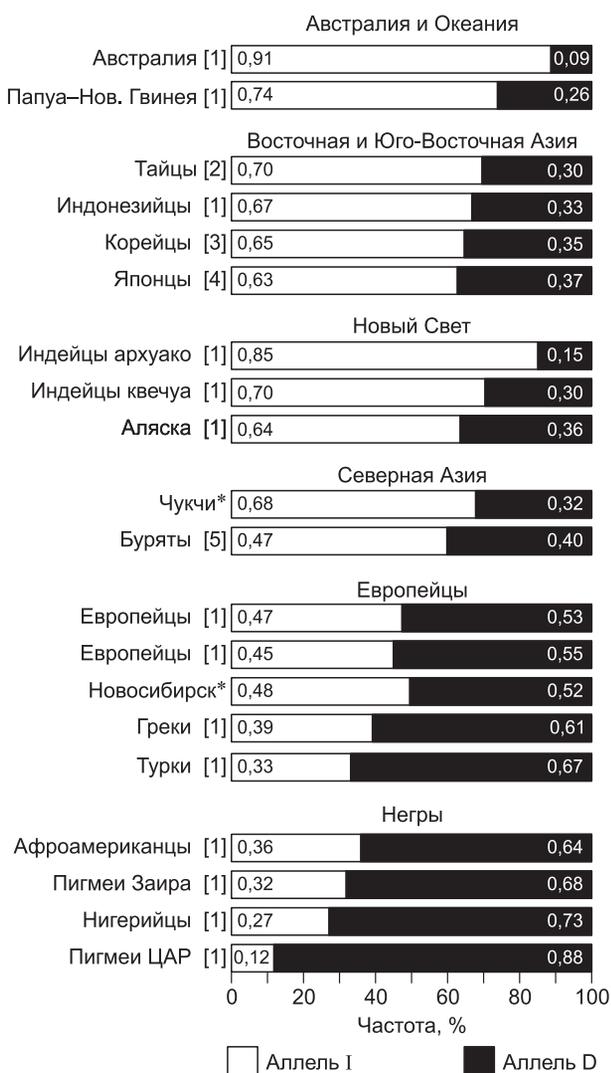


Рис. 3. Частоты аллелей Alu-инсерционного полиморфизма гена АПФ в различных популяциях и этнических группах земного шара.

1 – Batzer M. et al., 1994; 2 – Nitiyanant W. et al., 1997; 3 – Oh T. G. et al., 1996; 4 – Nakahama H. et al., 1999; 5 – Еремина Е.Р., 1999

австралийских школьников частота обоих аллелей составила 50 % при соотношении частот генотипов 1:2:1 для I/I, I/D и D/D соответственно (Wang X.L., 1996). Подобное соотношение частот генотипов в детской популяции приводится и в исследовании британских специалистов (Hohenfellner K., 1999). Некоторое преобладание аллеля D у европейцев, как и в настоящем исследовании, в основном характерно для выборок старших возрастных групп, обследованных в качестве контроля при изучении ассоциаций полиморфизма гена АПФ с различными заболеваниями. Таким образом, обнаруженная возрастная динамика частот аллелей и генотипов гена АПФ в выборке мужчин г. Новосибирска, по-видимому, является достаточно типичной для европеоидных популяций. Увеличение с возрастом частоты гомозиготного генотипа DD представляется достаточно неожиданным, поскольку согласно результатам большого числа опубликованных исследований именно для него характерно повышение риска ССЗ, являющихся основной причиной смертности мужчин в промышленно-развитых странах. Предполагая, что частоты аллелей и генотипов, наблюдаемые в репродуктивном возрасте, реально передаются между поколениями, их изменения в старших возрастных группах, по-видимому, в основном обусловлены различиями в уровне смертности между различными генотипическими классами. В этой связи формальная оценка уровня смертности различных генотипов гена АПФ приведена на рис. 4.

Мы исходили из предположения, что уровень смертности к возрасту 60 лет составляет 50 %, и учитывали изменение соотношения частот генотипов в старших возрастных группах по сравнению с молодыми. Расчет производился по предложенной нами формуле $(p_m - d \cdot p_n) / p_m$, где p_m – теоретически ожидаемая из соотношения Харди–Вайнберга частота соответствующего генотипа для наблюдаемой частоты аллелей в молодом возрасте, p_n – наблюдаемая частота генотипов в пожилом возрасте и d – процент умерших к старшему возрасту. Как следует из рис. 4, для генотипа DD характерен наимень-

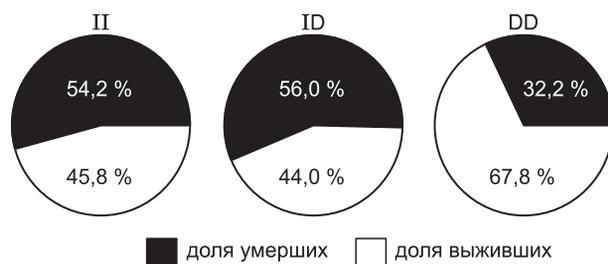


Рис. 4. Сравнительные оценки доли умерших мужчин к возрасту 60 лет для разных генотипов гена АПФ

Частоты аллелей и генотипов АпоЕ в популяции мужчин г. Новосибирска и коренных жителей Чукотки

| Генотип | Новосибирск | Чукотка | | |
|--|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | | Мужчины | Женщины | Оба пола |
| | $p(Sp)$ | $p(Sp)$ | $p(Sp)$ | $p(Sp)$ |
| Генотипы | | | | |
| АпоЕ2/2 | 0,010(0,010) $n = 1$ | — | — | — |
| АпоЕ2/3 | 0,073 (0,027) $n = 7$ | — | — | — |
| АпоЕ2/4 | 0,021 (0,015) $n = 2$ | — | — | — |
| АпоЕ3/3 | 0,708 (0,046) $n = 68$ | 0,734 (0,055) $n = 47$ | 0,662 (0,056) $n = 47$ | 0,696 (0,040) $n = 94$ |
| АпоЕ3/4 | 0,156 (0,037) $n = 15$ | 0,203 (0,050) $n = 13$ | 0,310 (0,055) $n = 22$ | 0,259 (0,038) $n = 35$ |
| АпоЕ4/4 | 0,031 (1,78) $n = 3$ | 0,063 (0,030) $n = 4$ | 0,028 (0,020) $n = 2$ | 0,045 (0,018) $n = 6$ |
| Аллели | | | | |
| АпоЕ2 | 0,057 (0,017) | — | — | — |
| АпоЕ3 | 0,823 (0,028) | 0,836 (0,033) | 0,817 (0,032) | 0,826 (0,023) |
| АпоЕ4 | 0,120 (0,025) | 0,164 (0,033) | 0,183 (0,032) | 0,174 (0,023) |
| Показатели соответствия равновесию Харди–Вайнберга | | | | |
| χ^2 | 5,170 | — | — | 1,306 |
| $p_{\text{ХВ}}$ | 0,111 | — | — | 0,374 |

ший уровень смертности и он существенно более высок для генотипов с аллелем. В связи с этим можно предполагать, что гомо- и гетерозиготные генотипы гена АПФ по аллелю I могут быть ассоциированы как с непосредственными причинами и механизмами смерти, например нарушениями проводимости, регуляцией тонуса сосудов, компенсаторными механизмами гемодинамики в случае сердечно-сосудистых заболеваний, предрасполагающими к фатальным исходам, так и с другими причинами смерти (злоупотребление алкоголем, инфекционные заболевания и т.д.). Косвенным образом данный феномен подтверждает результат одного из исследований французских авторов, в котором наблюдали резкое увеличение частоты генотипа DD при обследовании лиц в возрасте старше 100 лет по сравнению с более молодыми возрастными группами (Schachter F., 1994). Однако в целом данный вопрос требует дальнейшего углубленного анализа.

Полиморфизм гена АпоЕ и его связь с уровнями липидов крови в популяциях г. Новосибирска и коренного населения Чукотки

Анализ полиморфизма гена АпоЕ состоял в определении частот его наиболее распространенных аллельных вариантов АпоЕ2 (Cys112, Cys158), АпоЕ3 (Cys112, Arg158) и АпоЕ4 (Arg112, Arg158) и формируемых ими генотипов у представителей европеоидного (г. Новосибирск) и монголоидного населения Се-

верной Азии (Чукотский автономный округ). Выборка, обследованная в г. Новосибирске, включала 96 мужчин. В этническом отношении подавляющую часть обследованной группы составляли русские (> 90 %). Учитывая тот факт, что отдельные аллельные варианты АпоЕ во всех европеоидных популяциях ассоциированы с сердечно-сосудистыми, цереброваскулярными и нейродегенеративными заболеваниями, распространенность которых в России особенно высока, анализ был выполнен на возрастной группе, включающей одно десятилетие – 35–45 лет (средний возраст – 38,9 (3,6) года). Этот возраст предшествует фатальным проявлениям основной части сердечно-сосудистых заболеваний, что позволяет рассматривать полученные оценки уровня полиморфизма, как реально передающиеся по наследству. Частоты генотипов и аллелей в обследованной выборке приведены в табл. 6. Обнаружены все 6 возможных генотипов. Наиболее распространенным является аллель АпоЕ3. Частоты генотипов соответствуют теоретически ожидаемым и находятся в равновесии Харди–Вайнберга. Вероятнее всего, до 45-летнего возраста селекционирующие факторы не оказывают существенного влияния на структуру генофонда рассмотренной популяции по данному полиморфизму.

Аналогичный анализ был проведен для выборки из популяции коренных жителей Чукотки, включающей как мужчин, так и женщин (133 человека). Средний возраст для группы в целом составил 41,8 года (от 22 до 71 года), для

Уровни липидных показателей для разных генотипов АпоЕ в популяции мужчин г. Новосибирска и коренных жителей Чукотки и их связь с некоторыми изученными показателями

| Генотипы | ОХС, мг % | ТГ, мг % | ХС ЛПВП, мг % | n |
|--------------------------|---------------|---------------|---------------|------|
| | $\chi(S_x)$ | $\chi(S_x)$ | $\chi(S_x)$ | |
| г. Новосибирск (мужчины) | | | | |
| АпоЕ2/2 | 134,94 (39,4) | 37,68 (39,7) | 48,83 (18,8) | 1 |
| АпоЕ2/3 | 193,58 (15,2) | 120,10 (15,3) | 61,53 (7,3) | 7 |
| АпоЕ2/4 | 237,62 (28,2) | 208,56 (28,4) | 31,34 (13,5) | 2 |
| АпоЕ3/3 | 209,66 (4,8) | 93,57 (4,9) | 58,23 (2,3) | 67 |
| АпоЕ3/4 | 190,28 (10,2) | 104,71 (10,3) | 52,66 (4,8) | 15 |
| АпоЕ4/4 | 263,72 (22,8) | 118,65 (23,0) | 78,11 (10,8) | 3 |
| Возраст(P) | 0,089 | 0,020* | 0,121 | |
| Вес(P) | 0,084 | 0,001* | 0,012* | |
| Рост(P) | 0,483 | 0,001* | 0,637 | |
| Генотип(P) | 0,018* | 0,002* | 0,116 | |
| Чукотка (мужчины) | | | | |
| АпоЕ3/3 | 176,1 (5,9) | 75,0 (3,4) | 53,5 (2,2) | 45 |
| АпоЕ3/4 | 182,4 (11,5) | 83,3 (6,7) | 57,3 (4,4) | 11 j |
| АпоЕ4/4 | 184,5 (23,0) | 60,0 (13,3) | 67,3 (8,5) | 3 |
| Возраст(P) | 0,191 | 0,156 | 0,501 | |
| Генотип(P) | 0,851 | 0,263 | 0,254 | |
| Чукотка (женщины) | | | | |
| АпоЕ3/3 | 178,6 (7,1) | 88,2 (7,1) | 63,1 (2,8) | 45 |
| АпоЕ3/4 | 205,8 (10,4) | 95,1 (10,4) | 62,8 (4,0) | 21 I |
| АпоЕ4/4 | 181,9 (34,1) | 57,8 (34,0) | 82,4 (13,0) | 2 |
| Возраст(P) | 0,004* | 0,451 | 0,727 | |
| Генотип(P) | 0,037* | 0,592 | 0,938 | |

мужчин – 41,3 года (от 22 до 62 лет) и для женщин – 42,2 года (от 24 до 71 года). Возрастной диапазон был существенно шире, чем для мужчин г. Новосибирска, в связи с малочисленностью данной этнической группы в целом и крайней сложностью обследования достаточно большой по объему выборки жителей ограниченного возраста. В состав выборки вошли чукчи и эскимосы. Учитывая малочисленность группы эскимосов и отсутствие достоверных различий в частотах аллелей АпоЕ по сравнению с чукчами, обе этнические группы рассматривались вместе. Основным аллельным вариантом, как и в случае обследованной выборки русских, в популяции коренных жителей Чукотки является аллель АпоЕ3. Его частота для объединенной по полу выборки составляет 82,6 % и является близкой в обеих половых группах. Наиболее интересной особенностью коренных жителей Чукотки является отсутствие аллеля АпоЕ2. Частоты генотипов при объединении полов соответствуют теоретически ожидаемым и находятся в равновесии Харди–Вайнберга.

На следующем этапе молекулярно-эпидемиологического анализа была изучена связь полиморфизма аполипопротеина Е с уровнями липидов крови в обследованных выборках. Анализировали связь полиморфизма с уровнями ОХС, ТГ и ХС ЛПВП. В качестве независимой факторной переменной в случае популяции г. Новосибирска рассматривали генотип АпоЕ и в качестве независимых количественных переменных – возраст, рост и вес. Как следует из табл. 7, достоверная разница между генотипами обнаружена для уровней ХС и ТГ. Малочисленность отдельных генотипических классов не позволила зафиксировать достоверных различий между ними при попарных множественных сравнениях с использованием специальных критериев. Качественное сравнение уровней липидных показателей в зависимости от генотипа АпоЕ представлено на рис. 5. Отмечается возрастание уровней ХС и ТГ в ряду генотипов АпоЕ2/2, 2/3, 2/4. Аналогичная, хотя и не такая яркая тенденция отмечается для ТГ в ряду генотипов

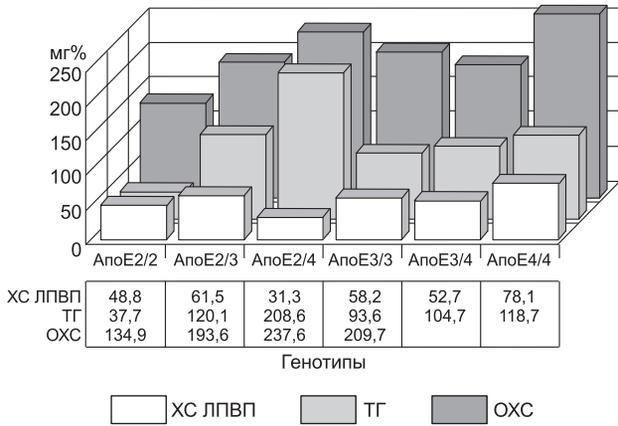


Рис. 5. Уровни липидов крови для разных генотипов гена АпоЕ у мужчин г. Новосибирска

АпоЕ3/3, 3/4, 4/4. Таким образом, наиболее выраженный эффект на уровень вариабельности ХС и ТГ в изученной популяции оказывает сочетание аллеля АпоЕ2 с другими вариантами. Не отмечается выраженного влияния на уровень ХС генотипов с аллелем АпоЕ4.

Средний эффект аллелей АпоЕ2 и АпоЕ4 в отношении уровня ХС проявляется в его понижении на 8,1 и 3,3 мг % соответственно, в отношении ТГ повышением их уровня на 23,6 и 12,6 мг % соответственно. Контролируемая данным полиморфизмом доля дисперсии составила 8,5 % в случае ХС и 13,4 % в случае ТГ.

В популяции коренных жителей Чукотки анализ связей уровней липидов крови с генотипами и аллелями АпоЕ проводился по аналогичной схеме. Достоверные отличия в уровнях липидных показателей обнаружены для ХС у женщин при сравнении двух наиболее частых генотипических классов. Для мужчин не обнаружено значимого эффекта полиморфизма АпоЕ ни для одного из проанализированных показателей. Эффект, наблюдаемый у женщин, состоит в повышении уровня ХС в случае генотипа АпоЕ3/4 по сравнению с генотипом АпоЕ3/3 (рис. 6). В отличие от популяции мужчин г. Новосибирска у коренных жителей Чукотки полиморфизм АпоЕ в обеих половых группах не ассоциирован с уровнем ТГ. Средний эффект аллеля АпоЕ4 у женщин выражается повышением уровня ХС на 14,3 мг % (объяснимая доля дисперсии 6,3 %).

Таким образом, влияние полиморфизма АпоЕ на уровни липидных показателей в европеоидной популяции г. Новосибирска и у монголоидного коренного населения Чукотки качественно различается. В отличие от г. Новосибирска у мужчин Чукотки не обнаружено достоверной связи между этими параметрами. Эффекты, отмеченные у женщин Чукотки, также

имеют качественно иной по сравнению с мужской популяцией Новосибирска характер.

Частоты аллелей в двух этнических группах Сибири в сопоставлении с данными по аборигенным популяциям различных регионов земного шара приведены на рис. 7. Во всех обследованных выборках наиболее распространенным является аллель АпоЕ3. Наибольшая частота аллеля АпоЕ4 отмечается в негроидных популяциях Африки и Новой Гвинеи, у аборигенов Нового Света и Австралии, в Северной Европе и северомонголоидных популяциях Евразии. В масштабе планеты можно выделить U-образный широтный географический градиент частоты этого варианта с максимальными значениями на экваторе и в циркумполярных областях Северного полушария. Минимальные значения частот АпоЕ4 отмечаются в популяциях субтропического пояса от Японии до Средиземноморского побережья в Евразии и у индейцев майя в Новом Свете. Существенные различия отмечаются и внутри расовых групп, например, между жителями Севера и Юга Европы. Частота аллеля АпоЕ2 в различных регионах подвержена значительным колебаниям. Он практически не встречается в Северной Азии, Австралии и Новом Свете. Частоты аллелей, обнаруженные в популяции г. Новосибирска, наиболее близки к описанным для популяции г. Москвы, одной из выборок французов и венгров. Частоты аллелей АпоЕ3 и АпоЕ4, обнаруженные на Чукотке при полном отсутствие аллеля АпоЕ2, совпадают с отмечаемыми в большинстве работ у аборигенов Аляски, эскимосов Гренландии и ряде других этнических групп коренного населения Нового Света.

Градиентное распределение частот аллеля АпоЕ4 на разных материках и в пределах различных расовых групп позволяет предполагать, что его формирование, вероятно, обусловлено адаптационными механизмами приспособления популяции человека к условиям внешней сре-

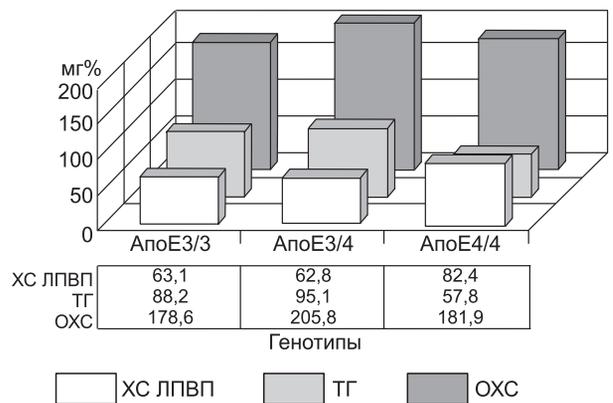


Рис. 6. Уровни липидов крови для разных генотипов гена АпоЕ у женщин Чукотки



Рис. 7. Частота аллелей ApoE в различных популяциях и этнических группах земного шара

ды и связанными с ней особенностями образа жизни на ранних стадиях ее развития. Особо следует подчеркнуть, что наименьшие значения частот аллеля ApoE4 наблюдаются в тех популяциях, которые заселяют регионы, известные как независимые первичные центры земледелия на планете (Harlan J.R., 1971): в Юго-Западной Азии (7–8 тыс. до н.э.), в Северном и Центральном Китае (5–4 тыс. до н.э.) и в Мезоамерике (7–6 тыс. до н.э.). И, наоборот, самые высокие частоты аллеля ApoE4 отмечаются в этнических группах, сохранявших до последнего времени (последнее тысячелетие и даже последние столетия) уклад жизни охотников-собирателей. Этот уклад, предшествовавший появлению культуры сельскохозяйственного типа, являлся единственной формой хозяйственной деятельности чело-

века во всех популяциях планеты еще примерно 10–12 тыс. лет назад. Наблюдаемое распределение варианта ApoE4 в этнических группах современного человечества, по-видимому, в значительной степени обусловлено условиями их существования и типом хозяйственной деятельности в неолитический период.

Оценивая возможный вклад полиморфизма ApoE в распространенность сердечно-сосудистых заболеваний в Сибири по сравнению с другими странами земного шара, можно констатировать, что европеоидное население г. Новосибирска по частотам аллелей и генотипов наиболее близко к популяциям таких стран Западной Европы, как Франция и Италия, в частности, их более северных частей. Примечательно, что данный регион Европы характеризуется относительно низкой распространенностью сердечно-сосудистой патологии атеросклеротического генеза. В связи с этим можно заключить, что особенности полиморфизма ApoE, вероятно, не являются определяющими детерминантами высокого уровня распространенности и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в европеоидной популяции России.

Популяция коренных жителей Чукотки характеризуется высокой распространенностью аллеля ApoE4, связываемого с повышенным риском ИБС. По этому показателю она практически не отличается от аборигенных популяций Северной Америки, в которых продемонстрирована связь аллеля ApoE4 с коронарным атеросклерозом (Scheer W.D., et al., 1998) и метаболическим X-синдромом. Наблюдаемый в настоящее время у аборигенов Северной Америки и связываемый с преобразованием традиционного образа жизни по западному типу рост распространенности этих патологических состояний позволяет прогнозировать возможность сходных изменений в эпидемиологической ситуации в отношении ССЗ и ХНИЗ и у аборигенов Чукотки.

Характер связи с уровнями липидов крови аллеля ApoE2 у мужчин г. Новосибирска соответствует наблюдаемому во всех европеоидных популяциях и у монголоидов Восточной Азии. Обнаруженное нами в европеоидной популяции Западной Сибири отсутствие выраженного повышения уровня ХС, характерного для гетерозигот ApoE3/E4 в популяциях Западной Европы, ранее также было отмечено в некоторых обследованных группах в г. Москве (Перова Н.В., 1996) и в ряде выборок Южной Европы и Восточной Азии. Повышение уровня ХС у женщин на Чукотке в случае генотипа ApoE3/E4 и отсутствие подобного эффекта у мужчин ранее было отмечено также у эскимосов Гренландии.

Выявленные ассоциации полиморфизма ApoE с уровнями липидов крови в обоих обслед-

дованных этнических группах подтверждают перспективность внедрения генотипирования по данному гену для оценки индивидуального риска ИБС, диагностики ряда дислипидемий и рационализации схем их коррекции в работе специализированных липидных центров с учетом имеющегося мирового опыта.

Полиморфизм гена ApoB в домене связывания с рецептором ЛПНП и его связь с уровнями липидов крови у арктических монголоидов

Исследована структурная вариабельность гена ApoB в участке, кодирующем домен связывания с рецептором ЛПНП, в различных этнических группах Северной Евразии. На первом этапе обследована выборка, включающая по несколько индивидов из различных этнических групп (чукчи, эскимосы, русские, алтайцы, татары, цыгане). Методом SSCP проанализировали вариабельность структуры фрагмента экзона 26 гена размером 693 нп между нуклеотидными позициями 10057 и 10752 последовательности кДНК. В результате, у одного из обследованных эскимосов был обнаружен гетерозиготный генотип, обусловленный точковой заменой. С помощью прямого секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК было обнаружено, что полиморфизм обусловлен трансверсией С на G в первой позиции кодона 3405, приводящей к замене аминокислоты Gln на Glu в структуре белка. Аминокислота в этой позиции непосредственно участвует во взаимодействии ApoB в составе ЛПНП с рецептором ЛПНП. Предварительные данные SSCP-анализа указывали на то, что выявленный полиморфизм характеризуется достаточно широким распространением, по крайней мере, у арктических монголоидов.

Для быстрого определения генотипов была разработана методика на основе аллельспецифической ПЦР. С помощью этой методики изучена распространенность аллельных вариантов и генотипов в ряде этнических групп Северной и Центральной Азии, а также Северной Америки. Результаты генотипирования различных выборок представлены в табл. 8. Аллель 3405G1U выявлен с низкой частотой в выборке русских, а также у коренных жителей севера тихоокеанского побережья. Максимальная его частота наблюдается у эскимосов Азии и Канады. Ранее оба аллельных варианта этого полиморфизма были обнаружены при расшифровке первичной последовательности гена. Однако авторы не связали данный факт с наличием полиморфизма, а расценили его как неточность секвенирования.

Таким образом, в результате проведенного анализа был выявлен новый полиморфизм гена и белка ApoB в домене связывания с рецептором ЛПНП с ярко выраженными этническими

особенностями распространения. Следует отметить, что до настоящего времени в данном районе гена была известна только мутация 3500, встречающаяся у европеоидов с низкой частотой и приводящая к развитию семейной гиперхолестеринемии, не связанной с изменением структуры рецептора ЛПНП. Частота более редкого аллельного варианта 3405G1U, обнаруженная в обследованной выборке русских, значительно превышает частоту мутантного аллеля с аминокислотной заменой в позиции 3500.

Высокий уровень обнаруженного полиморфизма у арктических монголоидов позволил провести дальнейшее детальное изучение его параметров в этих этнических группах. Была обследована выборка из 255 человек коренного взрослого населения Чукотки (чукчи, азиатские эскимосы) и Канады (эскимосы). Разделение эскимосов, несмотря на равенство частоты аллеля 3405Glu на Чукотке и в Канаде, было обусловлено тем, что в настоящее время их азиатская популяция является крайне малочисленной, проживающей длительное время в тесном контакте с береговыми чукчами. Распределение частот генотипов на Чукотке достоверно отклоняется от равновесия Харди–Вайнберга в объединенной группе чукчей и эскимосов (0,789, 0,173, 0,038 для генотипов 3405Gln/Gln, Gln/Glu и Glu/Glu соответственно, $\chi^2 = 5,552$, $p = 0,031$).

В выборке эскимосов Канады распределение генотипов находится в строгом соответствии равновесию Харди–Вайнберга (0,675, 0,301, 0,024 для генотипов 3405Gln/Gln, Gln/Glu и Glu/Glu соответственно, $\chi^2 = 0,224$, $p = 0,769$). Учитывая, что у чукчей частота аллеля 3405Glu значительно ниже, чем у азиатских эскимосов, наиболее вероятной причиной смещения от равновесия Харди–Вайнберга на Чукотке является перенос генов между двумя этническими группами. Частоты аллелей и генотипов были оценены раз-

Таблица 8

Частота аллеля 3405G1U ApoB в различных этнических группах Северной Евразии

| Этническая группа | N | $P_{(S_p)}$ |
|-------------------------------|-----|--------------|
| Русские (МОНИКА, Новосибирск) | 98 | 0,005(0,005) |
| Финно-угры Западной Сибири | 50 | — |
| Северные селькупы | 65 | — |
| Монголы | 30 | — |
| Якуты | 24 | — |
| Нивхи | 30 | — |
| Коряки | 60 | 0,017(0,012) |
| Чукчи | 97 | 0,090(0,021) |
| Азиатские эскимосы | 39 | 0,180(0,044) |
| Канадские эскимосы | 123 | 0,175(0,024) |

Частоты аллелей и генотипов полиморфизма АпоВ Gln3405Glu в популяциях коренных жителей Чукотки и Канады

| Генотип | Чукчи | | Азиатские эскимосы | | Канадские эскимосы | |
|-----------------|--|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | Мужчины | Женщины | Мужчины | Женщины | Мужчины | Женщины |
| | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ |
| | Генотипы | | | | | |
| 3405GlrVGln | 0,848 (0,053) $n = 39$ | 0,787(0,060) $n = 37$ | 0,636(0,103) $n = 14$ | 0,824 (0,092) $n = 14$ | 0,639 (0,057) $n = 46$ | 0,725(0,063) $n = 37$ |
| 3405Gn/Glu | 0,109(0,046) $n = 5$ | 0,213(0,060) $n = 10$ | 0,227(0,089) $n = 5$ | 0,176(0,092) $n = 3$ | 0,319(0,055) $n = 23$ | 0,275(0,063) $n = 14$ |
| 3405Gn/Gln | 0,043 (0,030) $n=2$ | — | 0,136(0,073) $n = 3$ | — | 0,042 (0,024) $n = 3$ | — |
| | Аллели | | | | | |
| 3405Gln | 0,902(0,031) | 0,894(0,032) | 0,750(0,065) | 0,912(0,049) | 0,799(0,033) | 0,863(0,035) |
| 3405Glu | 0,098 | 0,106 | 0,250 | 0,088 | 0,201 | 0,137 |
| | Показатели соответствия равновесию Харди–Вайнберга | | | | | |
| χ^2 | 6,790 | 0,666 | 3,414 | 0,159 | 0,003 | 1,290 |
| $p_{\text{хв}}$ | 0,054 | 0,658 | 0,080 | 1,000 | 1,000 | 0,575 |

дельно в мужских и женских выборках для трех этнических групп (табл. 9).

В результате было обнаружено, что частоты аллелей отличаются между мужской и женской популяциями эскимосов Канады и Чукотки и примерно равны у чукчей. Распределения генотипов в обеих половых группах в Канаде находятся в равновесии Харди–Вайнберга при приблизительно 40 % разнице в частоте аллеля. На Чукотке в мужских выборках и чукчей и эскимосов наблюдается тенденция к отклонению от равновесия Харди–Вайнберга. Частота более редкого аллеля на Чукотке у женщин близка к отмечаемой в Канаде как у чукчей, так и у эскимосов. У мужчин она значительно ниже у чукчей.

Характерной особенностью распределения генотипов является отсутствие гомозигот по аллелю Glu3405 во всех обследованных выборках женщин на обоих континентах. Таким образом, проведенный популяционно-генетический анализ позволяет констатировать наличие выраженных половых различий в структуре генофонда обследованных групп арктических монголоидов в отношении полиморфизма Gln3405Glu с понижением частоты более редкого варианта у женщин. По-видимому, этот полиморфизм является специфическим для группы эскимосов и зафиксирован у них на одинаковом уровне на широком географическом пространстве. Популяция азиатских эскимосов в настоящее время подвергается интенсивному давлению со стороны береговых чукчей, у которых исходно этот полиморфизм отсутствовал. Генетический обмен

между популяциями на Чукотке, по-видимому, идет в основном за счет браков с женщинами других национальностей. Отсутствие гомозигот одного класса у женщин является необычным и может свидетельствовать о полоспецифических онтогенетических эффектах разных генотипов.

Далее была изучена связь выявленного полиморфизма с уровнями липидных показателей крови в обследованных популяциях коренных жителей Чукотки и Канады.

В качестве независимых факторных переменных в линейной модели рассматривались: пол, генотип АпоВ, место жительства (Чукотка, Канада), национальность (чукчи, эскимосы) и комбинации этих факторов. В качестве независимой количественной переменной рассматривался возраст. Результаты представлены в табл. 10. Из рассмотренных липидных показателей значимый эффект генотипа обнаружен для уровня ОХС в сочетании с полом. Этот результат свидетельствовал, что существуют достоверные различия по уровню ОХС между генотипами, но характер этих различий отличается в половых группах. Действительно, как следует из табл. 10, наиболее выраженные различия отмечаются у женщин. Повышение у них уровня ОХС в случае генотипа 3405Gln/Glu статистически достоверно после коррекции на возраст. У мужчин различия между генотипами по уровням липидов крови различаются по характеру от наблюдаемых женщин и статистически недостоверны. Таким образом, как и в случае полиморфизма АпоЕ, у арктических монголоидов обнаружено влияние варибельности структуры

Уровни липидных показателей для разных генотипов АпоВ в популяции коренных жителей Чукотки и Канады и их связь с некоторыми изученными показателями

| Генотип | ХС(мг%) | ТГ(мг%) | ХС ЛПВП(мг%) | n |
|---|--------------------|--------------------|--------------|----|
| | X(s _x) | X(s _x) | X(Sx) | |
| Мужчины | | | | |
| 3405Gln/Gln | 192,5(4,6) | 79,8(2,3) | 54,3(1,5) | 97 |
| 3405Gln/Glu | 183,5(8,0) | 86,0(4,1) | 49,7(2,6) | 32 |
| 3405Glu/Glu | 197,1(15,9) | 88,7(8,2) | 46,9(5,2) | 8 |
| Женщины | | | | |
| 3405Gln/Gln | 182,5(5,0) | 82,2(3,7) | 60,8(1,8) | 85 |
| 3405Gln/Glu | 215,0(8,9) | 95,6(6,6) | 56,3(3,3) | 27 |
| Независимые с факторные и количественные переменные | | | | |
| Возраст(P) | 0,003* | 0,908 | 0,001* | |
| Место жительства(P) | 0,150 | 0,438 | 0,352 | |
| Этническая группа(P) | 0,936 | 0,146 | 0,352 | |
| Генотип АпоВ(P) | 0,620 | 0,545 | 0,513 | |
| Пол(P) | 0,046* | 0,158 | 0,106 | |
| Генотип АпоВ X пол(P) | 0,003* | 0,417 | 0,407 | |

АпоВ в домене связывания с рецептором ЛПНП на уровень ОХС у женщин. Поскольку данный полиморфизм исследовался впервые, для дополнительной верификации наблюдаемого эффекта связь генотипов с уровнем ОХС была проанализирована отдельно для коренных жителей Чукотки и Канады. Эти две выборки были обследованы совершенно независимо разными исследовательскими группами и по разным протоколам. При этом жители этих двух регионов находятся в разных социально-экономических условиях. Как следует из рис. 8, в обеих выборках наблюдаются сходные соотношения между средними уровнями ОХС для разных генотипов у женщин.

На основании этих данных факт повышения уровня ОХС у женщин можно рассматривать как инвариантное фенотипическое проявление генотипа 3405Gln/Glu АпоВ в популяции арктических монголоидов при широком диапазоне возможных социально-экономических условий. В связи с отсутствием гомозигот АпоВ 3405Glu/Glu у женщин при оценке для них среднего эффекта аллеля 3405Glu в отношении уровня ОХС исходили из двух альтернативных предположений – равенства средних уровней ОХС для гомозиготного и гетерозиготного генотипа по этому аллелю или линейного возрастания уровня ОХС в ряду генотипов 3405Gln/Gln, Gln/Glu, Glu/Glu. Оказалось, что средний эффект аллеля 3405Glu для женщин Чукотки выражается в повышении уровня ОХС по отношению к популяционной средней на 29,2 и 33,3 мг % соответственно. Контролируемая данным полиморфизмом доля дисперсии уровня ОХС со-

ставляла 9,4 и 10,9 % соответственно. В Канаде аналогичные оценки составили 16,0 и 19,0 мг % и 4,5 % и 5,5 % соответственно.

В рамках проведенного исследования для подвыборки женщин Чукотки оказалось возможным оценить совместное влияние полиморфизма АпоЕ и АпоВ на уровень ОХС. Как следует из рис. 9, при различных сочетаниях наиболее распространенных генотипов этих двух генов обнаружено увеличение уровня ОХС в ряду генотипов (АпоЕ3/3, АпоВ 3405Gln/Gln): (АпоЕ3/4, АпоВ 3405Gln/Gln):(АпоЕ3/3, АпоВ 3405Gln/Glu):(АпоЕ3/4, АпоВ 3405Glu/Glu). Для стандартизованных по возрасту показателей $pANOVA = 0,005$. Совместный эффект возраста и анализируемых генотипов определяет до 27 % фенотипической вариабельности уровня ОХС. Фактически налицо близкое к аддитивному вза-

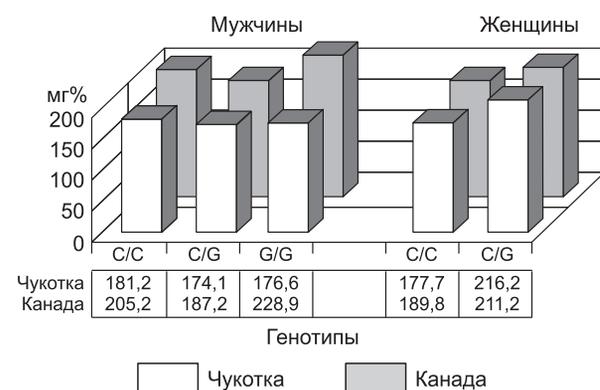


Рис. 8. Уровни ОХС у коренных жителей Чукотки и Канады для разных генотипов АпоВ. С/С, С/Г b G/G – генотипы 3405Gln/Gln, Gln/Glu и Glu/Gl

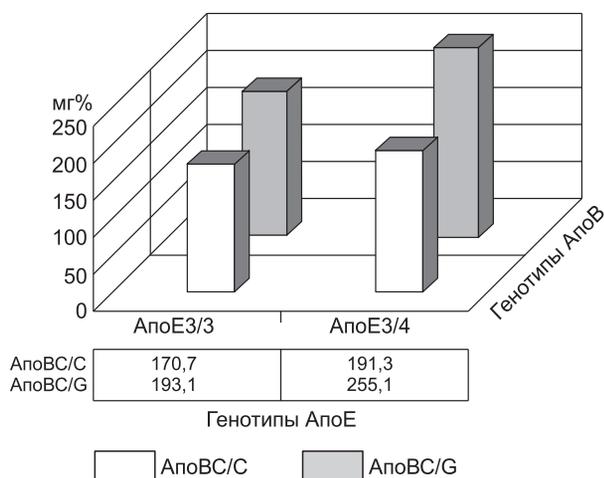


Рис. 9. Уровень ОХС у женщин коренных национальностей Чукотки при разных сочетаниях генотипов ApoE и ApoB

имодействие двух локусов в отношении рассматриваемого количественного признака. Сочетание двух гетерозиготных генотипов приводит к повышению уровня ОХС более чем на 80 мг % и формированию гиперхолестеринемии. При наблюдаемой частоте аллелей доля женщин с таким генотипом в популяции составляет около 7 % (реально в обследованной выборке 8,5 %). Данное наблюдение является первым примером расшифровки генетической структуры полигенной гиперхолестеринемии. Обнаружение полиморфного маркера гена рецептора макрофаг колонии стимулирующего фактора и анализ его связи с уровнями липидных показателей.

На заключительном этапе исследования был проведен поиск полиморфных маркеров для гена рецептора макрофаг колонии стимулирующего фактора (pMКСФ). Данный ген кодирует один из ключевых рецепторов регуляции дифференцировки, пролиферации и функционирования макрофагов, которые являются одним из важнейших звеньев атерогенеза. Макрофаги, трансформировавшиеся в пенные клетки, являются типичными клеточными компонентами атеросклеротической бляшки. В экспериментах на трансгенных и “knock out” мышах продемонстрировано, что нарушения экспрессии ряда белков специфических для макрофагов, или лигандов, связывающихся с макрофагальными рецепторами, модулируют интенсивность развития атеросклеротических поражений. В частности, у мышей, трансформированных человеческим ApoE и дефицитных по лиганду pMКСФ, развитие экспериментального атеросклероза резко замедляется несмотря на значительное повышение уровня липидов крови. До настоящего времени данные об исследовании

полиморфизма макрофаг специфических генов в связи с атеросклерозом у человека в литературе не представлены. В связи с этим в качестве нового гена-кандидата сердечно-сосудистых заболеваний и был рассмотрен ген pMКСФ, для которого на момент проведения исследования был известен только один трудно тестируемый полиморфный маркер.

Основные этапы молекулярно-генетического анализа были аналогичны описанным ранее для гена ApoB. Однако в соответствии с общепринятой стратегией поиска однонуклеотидных полиморфных маркеров (ОНП), в случае гена pMКСФ анализ его структурной варибельности методом SSCP проводили для некодирующих районов. В выборке немцев Алтайского края, обследованных при изучении последствий воздействия радиации на население края, был обнаружен полиморфизм в проксимальной к терминальному кодону 3'-нетранслируемой области гена. С помощью прямого секвенирования было установлено, что данный полиморфизм определяется спаренными TC-CA заменами в нуклеотидных позициях 34294 и 34295 (согласно нумерации Натре et al., 1988). Далее с помощью разработанной скрининговой методики генотипирования, основанной на аллель-специфической ПЦР, были оценены частоты аллелей и генотипов обнаруженного полиморфизма в популяционных выборках мужчин г. Новосибирска и коренных жителей Чукотки. Результаты представлены в табл. 11.

И в Новосибирске, и на Чукотке у мужчин соотношение частот генотипов отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга. При этом у женщин Чукотки оно довольно хорошо соответствует ему. Суммарные частоты аллелей в популяции коренных жителей Чукотки чрезвычайно близки к отмеченным в Новосибирске. Таким образом, из всех рассмотренных в данной работе генов полиморфизм гена pMКСФ оказался одинаковым в Новосибирске и на Чукотке. Это обстоятельство позволяет предполагать высокую функциональную значимость данного полиморфизма и сходство его уровней в популяциях человека в широком диапазоне климато-географических условий.

Как и в случае гена АПФ, было проведено сравнение частот аллелей и генотипов в популяции мужчин г. Новосибирска в различных возрастных группах. Обнаружено некоторое повышение частоты более редкого аллельного варианта у мужчин старше 45 лет по сравнению с выборкой предшествующего возраста (0,195(0,022) и 0,258 соответственно). При этом соотношение генотипов в более молодом возрасте (0,673(0,037), 0,264(0,035), 0,063(0,019)) достоверно не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 3,995$, $p_{\chi^2} = 0,073$), хотя для

Частоты аллелей и генотипов рМКСФ в популяции мужчин г. Новосибирска и коренных жителей Чукотки

| Генотипы | Новосибирск | | Чукотка | |
|-----------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | Мужчины | Женщины | Оба пола |
| | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ | $p(S_p)$ |
| | Генотипы | | | |
| РМКСФ с/с | 0,628 (0,024) $n = 246$ | 0,625(0,061) $n = 40$ | 0,627 (0,063) $n = 37$ | 0,626 (0,044) $n = 77$ |
| РМКСФ с/г | 0,283 (0,023) $n = 111$ | 0,234 (0,053) $n = 15$ | 0,322 (0,061) $n = 19$ | 0,276 (0,040) $n = 34$ |
| РМКСФ г/г | 0,089 (0,014) $n = 35$ | 0,141 (0,043) $n = 9$ | 0,051 (0,029) $n = 3$ | 0,098 (0,027) $n = 12$ |
| | Аллели | | | |
| РМКСФ с | 0,769 (0,015) | 0,742 (0,039) | 0,788 (0,038) | 0,764 (0,027) |
| РМКСФ г | 0,231 (0,015) | 0,258 (0,039) | 0,212 (0,038) | 0,236 (0,027) |
| | Показатели соответствия равновесию Харди–Вайнберга | | | |
| χ^2 | 16,100 | 9,613 | 0,075 | 6,674 |
| $p_{хв}$ | 0,001 | 0,010* | 1,000 | 0,014* |

Примечание: С – аллель с ТС в нуклеотидных позициях 34294 и 34295, г – аллель с СА соответственно.

данной частоты аллелей и отмечается некоторый недостаток гетерозигот и избыток гомозигот по редкому аллелю. В выборке после 45 отмечается резкое отклонение частот генотипов от равновесия Харди–Вайнберга (0,593(0,032), 0,299(0,030), 0,108(0,020)) ($\chi^2 = 11,079$, $p_{хв} = 0,000$). Как и в возрасте до 45 лет, наблюдается недостаток гетерозигот и избыток гомозигот по аллелю гг. Относительная смертность для разных генотипов рМКСФ, оцененная подобно тому, как описано для вариантов гена АПФ, сравнительно низка для гомозигот по редкому аллелю. Таким образом, проведенный анализ свидетельствует о возможной функциональной значимости обнаруженного полиморфизма гена рМКСФ и его ассоциации с заболеваниями, вносящими существенный вклад в общую смертность мужчин в европеоидной популяции. В выборке коренных жителей Чукотки аналогичный анализ не проводился из-за малочисленности возрастных групп.

Учитывая имеющиеся литературные данные об изменении уровня липидов крови у мышей в ответ на инактивацию гена МКСФ – лиганда рМКСФ, были исследованы ассоциации обнаруженного полиморфизма рМКСФ с уровнями липидных показателей. Анализ проводился с помощью общей линейной модели, процедуры общего факторного анализа. Результаты приведены в табл. 12.

В случае популяции мужчин г. Новосибирска обнаружены значимые различия между генотипами по уровню ХС ЛПВП. У гетерозигот

наблюдается существенно меньший уровень этого показателя, чем у обеих гомозигот. В объединенной выборке коренных жителей Чукотки отмечается сходное соотношение между генотипами по уровню ХС ЛПВП, хотя эффект и не достигает уровня статистической значимости. Для гетерозигот на Чукотке также характерна тенденция к более низким уровням ОХС и ТГ. Таким образом, исследование ассоциации полиморфизма гена рМКСФ с уровнями липидных показателей позволяет предполагать, что вариабельность структуры этого гена может влиять на вариабельность уровня ХС ЛПВП в популяции. При этом наблюдается не совсем обычный характер взаимоотношений между различными генотипическими классами. В частности, полученные данные свидетельствуют о возможности качественного своеобразия гетерозиготного генотипа по сравнению с обеими гомозиготами. В свою очередь связь с уровнем ХС ЛПВП может обуславливать ассоциацию данного полиморфизма с сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза.

Таким образом, как данные популяционно-генетического анализа, так и результаты изучения ассоциаций с некоторыми факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний свидетельствуют о том, что ген рМКСФ является перспективным геном-кандидатом для дальнейшего изучения его роли в формировании наследственной предрасположенности к ССЗ и другим распространенным патологическим состояниям.

Уровни липидных показателей для разных генотипов гена рМКСФ в популяциях мужчин г. Новосибирска и коренных жителей Чукотки и их связь с некоторыми изученными показателями

| Генотип | ОХС, мг % | ТГ, мг % | ХС ЛПВП | n |
|---|--------------|--------------|------------|-----|
| | $x(S_x)$ | $x(S_x)$ | $x(S_x)$ | |
| Мужчины г. Новосибирска | | | | |
| C/C | 205,1 (2,8) | 113,8 (4,2) | 56,4 (1,0) | 244 |
| C/G | 209,7 (4,2) | 125,0 (6,3) | 50,9 (1,6) | 110 |
| G/G | 209,5 (7,6) | 123,7 (11,3) | 54,4 (2,8) | 34 |
| Независимые факторные и количественные переменные | | | | |
| Возраст (P) | 0,001* | 0,015 | 0,543 | |
| ИМТ (P) | 0,014 | 0,000* | 0,000* | |
| Генотип (P) | 0,616 | 0,293 | 0,016* | |
| Чукотка (мужчины и женщины) | | | | |
| c/c | 181,7 (9,4) | 81,8 (7,8) | 61,1 (3,2) | 73 |
| C/G | 166,9 (12,3) | 73,2 (10,3) | 55,1 (4,3) | 32 |
| G/G | 188,9 (18,9) | 88,0 (15,7) | 69,5 (6,5) | 12 |
| Независимые факторные и количественные переменные | | | | |
| Возраст (P) | 0,002* | 0,038* | 0,154 | |
| Национальность (P) | 0,955 | 0,875 | 0,465 | |
| Генотип (P) | 0,677 | 0,767 | 0,335 | |
| Пол (P) | 0,484 | 0,910 | 0,099 | |

ВЫВОДЫ

1. Анализ полиморфизма митохондриальной ДНК в различных этнических группах Евразии свидетельствует о возможности их формирования из единой древней популяции человека в Центральной и Средней Азии с первоначальным расхождением западных и восточных полюсов, контрастных в антропологическом и генетическом отношении и последующим радиальным расхождением от них современных этнических групп.

2. Наиболее близок к предковому состоянию западной протопопуляции генофонд окраинных этнических групп Европы и Западной Сибири. В формировании особенностей полиморфизма ядерных генов впоследствии существенную роль сыграла его адаптационная значимость.

3. Уровень полиморфизма генов АпоЕ и АПФ в европеоидной популяции Сибири близок к регистрируемому в Западной Европе. Частоты аллелей E2, E3 и E4 гена АпоЕ составили 0,057, 0,823 и 0,120 соответственно. Частоты аллелей I и D гена АПФ составили 0,477 и 0,523. В популяции коренных жителей Чукотки в случае гена АпоЕ обнаружены только аллели E3 и E4 с частотами 0,826 и 0,174. Частоты аллелей I и D гена АПФ составили 0,680 и 0,320. По уровню полиморфизма генов АпоЕ и АПФ коренные жители Чукотки отличаются от европеоидных этнических групп и близки к коренному населению арктической зоны Северной Америки.

4. Полиморфизм гена АПФ в европеоидной популяции Сибири не связан с уровнем артериального давления. У коренных жителей Чукотки отмечается значимая ассоциация полиморфизма гена АПФ с пульсовым артериальным давлением.

5. Частота D/D генотипа Alu-инсерционного полиморфизма гена АПФ достоверно повышается после 50 лет в европеоидной популяции мужчин г. Новосибирска. В возрастной группе 45–64 лет наблюдается снижение частоты гомо- и гетерозиготных генотипов гена АПФ с инсерцией Alu-элемента, по-видимому, вследствие более высокого уровня смертности среди их носителей.

6. В европеоидной популяции мужчин Западной Сибири полиморфизм гена АпоЕ достоверно ассоциирован с изменчивостью уровней ОХС и ТГ в основном за счет аллеля E2. Обнаружено возрастание их уровней в ряду генотипов E2/2, 2/3, 2/4. У коренных жителей Чукотки полиморфизм АпоЕ связан с изменчивостью уровня ОХС у женщин.

7. Обнаружено, что в популяции арктических монголоидов Чукотки и Северной Америки широко распространен специфический аллельный вариант АпоВ 3405GIU. Его частота составляет 0,090, 0,180 и 0,175 у чукчей, азиатских и канадских эскимосов соответственно. Наличие в генотипе данного аллеля приводит к повышению уровня ОХС у женщин самостоя-

тельно и во взаимодействии с полиморфизмом АпоЕ. Существуют различия в частотах генотипов и аллелей по этому полиморфизму в половых группах.

8. Обнаружен новый полиморфизм гена рМКСФ, распространенный как в европеоидных, так и монголоидных популяциях Северной Азии. Частота более редкого аллеля составля-

ет 0,231 в мужской европеоидной популяции г. Новосибирска и 0,236 у коренных жителей Чукотки. Данный полиморфизм характеризуется различиями частот генотипов между возрастными группами и значимо ассоциирован с вариабельностью уровня ХС ЛПВП у мужчин г. Новосибирска.

POLYMORPHISM AND CONNECTION WITH RISK FACTORS OF SOME GENES OF PREDISPOSITION TO CARDIOVASCULAR DISEASES IN ETHNIC GROUPS IN SIBERIA (MOLECULAR-EPIDEMIOLOGICAL AND EVOLUTION-GENETIC ASPECTS)

M.I. Voevoda

Institute of Internal Medicine SB RAMS, Novosibirsk

Analysis of mitochondrial DNA polymorphism in different ethnic groups in Euro-Asia testify to risk the possibility of their formation from the same ancient human population in Control and Middle Asia with the initial divergence of western and eastern poles contrast in anthropology and genetics and with the following radial divergence with modern ethnic groups. The closest to the ancestral state of western protopopulation is gene pool of suburban ethnic groups in Europe and West Siberia. The important role in forming peculiarities of nuclear genes polymorphism belonged to its adaptive meaning. The levels of ApoE and ACE genes polymorphism in European Siberian population is close to that registered in West Europe. The frequency of E2, E3 and E4 alleles of ApoE gene were 0.057; 0.823 and 0.120 accordingly. The frequency of I and D alleles of ApoE gene were 0.477 and 0.523 accordingly. In the native population of Chukotka in case with ApoE gene only E3 and E4 alleles and frequency 0.826 and 0.174 were revealed. Frequency of I and D alleles of ACE gene were 0.6890 and 0.320. According to polymorphism level of ApoE and ACE genes the natives of Chukotka differ from European ethnic groups and are close to the native population of the arctic region of North America. ACE gene polymorphism in European Siberian population is not associated with AP levels. In Chukotka natives significant association of ACE gene polymorphism with pulse AP was revealed. The frequency of D/D genotype of Alu-insertion polymorphism of APF gene is reliably increasing after 50 years of age in male European population in Novosibirsk. In the age group 45-64 the decrease of the frequency of homo- and heterozygous genotypes of ACE gene with insertion of Alu-element is observed, maybe, due to higher mortality level among their carrier. In the European male population in West Siberia ApoE gene polymorphism is reliably associated with variability of cholesterol and triglyceride levels, mainly at the expense of E2 allele. The increase of their levels in the row of E2/2, 2/3, 2/4 genotypes was found. In Chukotka natives ApoE polymorphism is connected with variability of cholesterol levels in women. It was revealed that in the population of arctic mongoloids in Chukotka and North America specific alleles variant of ApoB 3405Glu is wide spread. Its frequency is 0.090, 0.180 and 0.175 in chukchies and Canadian Eskimos accordingly. The presence of this allele in the genotype leads to the increase of cholesterol level in women independently and in interaction with ApoE polymorphism. There are some differences in genotypes and alleles frequency by this polymorphism in sex groups. The new c-fms gene polymorphism was found spread both in European and mongoloids populations of North Asia. The frequency of more rare allele is 0.231 in male European population in Novosibirsk and 0.236 in natives of Chukotka. This polymorphism is characterized by differences in genotypes frequency between age groups and is significantly associated with variability of Ch-HDL level in Novosibirsk men.