

УДК: 575.174.015.3-577

### Структура населения Харькова по локусу *PON-1*

Л.А.Атраментова<sup>1,2</sup>, В.В.Полторак<sup>1</sup>, Т.В.Тижненко<sup>1</sup>, М.Ю.Горшунская<sup>3</sup>, А.К.Почерняєв<sup>1</sup><sup>1</sup>ГУ «Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я.Данилевского АМН Украины» (Харьков, Украина)<sup>2</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)<sup>3</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования (Харьков, Украина)  
wshkoda23@rambler.ru

На образцах крови 110 жителей Харькова, 38 из которых имели сельское и 72 городское происхождение, исследован полиморфизм гена *PON-1* по 192 позиции аминокислотной последовательности фермента параоксоназы 1, связанный с синтезом изоферментов R и Q. Частота аллеля Q составляет в общей популяции  $p_Q=0,67$ , аллеля R –  $p_R=0,33$ . У жителей сельского происхождения повышена частота аллеля Q ( $p_Q=0,76$ ) по сравнению с жителями городского происхождения ( $p_Q=0,63$ ). Распределение генотипов в группе сельского происхождения не отличается от равновесного, в группе населения с городскими корнями имеется избыток гетерозигот.

**Ключевые слова:** *однонуклеотидный полиморфизм, ген PON-1, структура популяции.*

### Структура населения Харькова за локусом *PON-1*

Л.О.Атраментова, В.В.Полторак, Т.В.Тижненко, М.Ю.Горшунська, А.К.Почерняєв

На зразках крові 110 жителів Харкова, 38 з яких мали сільське і 72 міське походження, вивчено поліморфізм гену *PON-1* за 192 позицією амінокислотної послідовності ферменту параоксонази 1, пов'язаний із синтезом ізоферментів R і Q. Частота алеля Q в загальній популяції складає  $p_Q=0,67$ , алеля R –  $p_R=0,33$ . У жителів сільського походження підвищена частота алеля Q ( $p_Q=0,76$ ) у порівнянні з мешканцями міського походження ( $p_Q=0,63$ ). Розподіл генотипів в групі сільського походження не відрізняється від стану рівноваги, в групі населення міського походження спостерігається підвищена кількість гетерозигот.

**Ключові слова:** *однонуклеотидний поліморфізм, ген PON-1, структура популяції.*

### Paraoxonase 1 gene polymorphism in Kharkiv population

L.A.Atramentova, V.V.Poltorak, T.V.Tyzhnenko, M.Yu.Gorshunskaya, A.K.Pochernyaev

The paraoxonase biallelic gene polymorphism at codon 192 (glutamine/arginine or Q/R) was determined in leukocyte DNA, received from blood samples of 110 practically healthy unrelated Kharkiv inhabitants (38 persons for rural by birth and 72 persons for urban by birth). The frequency of Q and R alleles for the total Kharkiv population were 0.67 and 0.33 respectively, but the rural by birth inhabitants showed a higher frequency of a Q allele compared to the urban by birth individuals ( $p_Q=0.76$  vs  $p_Q=0.63$ ). The genotype frequencies for urban by birth inhabitants were in linkage disequilibrium (predominance of heterozygosity) but not for rural by birth inhabitants.

**Key words:** *single nucleotide polymorphism, paraoxonase 1 gene, population structure.*

#### Введение

Данные по полиморфизму кандидатных генов хронических заболеваний, которые интенсивно изучаются в последние десятилетия в связи с исследованием природы хронических болезней, важны не только для понимания этиологии заболевания и генетического прогнозирования, но также могут дать ценную информацию о структуре популяции. Одним из таких генов является ген параоксоназы *PON-1*, локализованный на седьмой хромосоме (7q21–22) (GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), рассматриваемый как кандидатный ген эндокринных и сердечно-сосудистых заболеваний. Известны различные однонуклеотидные полиморфизмы гена *PON-1*, приводящие к изменению активности параоксоназы. Один из них – однонуклеотидный полиморфизм *PON-1* – представляет собой несинонимическую замену Q192R SNP в Region Ex6+78A>G (GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Эта замена связана с продукцией двух изоферментов, которые различаются аминокислотными остатками – глутаминовый (Q) или аргининовый (R) – в позиции 192 активного центра фермента (Zhang et al., 2003). Целью исследования было получить информацию о распределении однонуклеотидного полиморфизма гена *PON-1*, определяющего аминокислотную замену 192Q→R параоксоназы в населении города Харькова в зависимости от происхождения жителей.

### Материалы и методы

Образцы крови 110 доноров были получены на Харьковской областной станции службы крови с их письменного согласия. ДНК выделена из лейкоцитов при помощи ионообменной смолы Челекс-100 (ChelexR100) (Walsh et al., 1991). Однонуклеотидную замену, которая ведёт к изменению в аминокислотной последовательности параоксоназы в позиции 192 с глутамина на аргинин, определяли путём амплификации в полимеразной цепной реакции фрагмента гена размером 199 пар нуклеотидов с последующим гидролизом эндонуклеазой *BspPI*. Были использованы прямой (PON192F TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG) и обратный (PON192R GACATACTTGCCATCGGGTCAA) праймеры (Ombres et al., 1998). В качестве маркера молекулярной массы была использована ДНК *pUC19*, гидролизованная эндонуклеазой *MspI*. Разделение фрагментов ДНК после рестрикции проводили с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Электрофореграмма ПЦР-продуктов (рис. 1) даёт представление о генотипах по гену *PON-1*. Одна полоска, соответствующая фрагменту ДНК размером 199 пар нуклеотидов, в образцах 1–4, 6 и 9 указывает на генотип QQ. В образце 8 (генотип RR) две полоски представляют фрагменты ДНК длиной 135 и 64 пар нуклеотидов. Три полоски (199, 135 и 64 пары нуклеотидов) в образцах 5 и 7 свидетельствуют о генотипе QR.

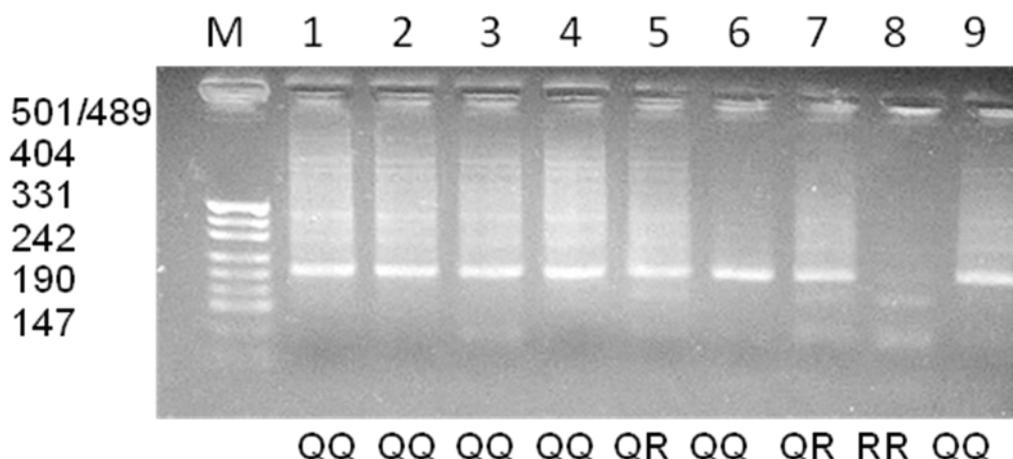


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР специфической последовательности ДНК, генотипированной по SNP-полиморфизму гена *PON-1* в Region Ex6+78A>G

Примечание: M – маркер молекулярной массы ДНК *pUC19*, гидролизованной эндонуклеазой *MspI*. 1–9 – ДНК доноров с различными генотипами.

Обследованных в зависимости от места рождения родителей разделили на группы. В первую группу отнесены индивиды, родители которых происходили из одного села (I), во вторую – родители из разных сёл (II). Третью группу (III) составили лица, чьи родители были уроженцами одного города, четвёртую – уроженцы разных городов (IV). Как нами было показано ранее, частоты аллелей гена *PON-1* значимо не различались у мужчин и женщин, а также у русских и украинцев, поэтому в данной работе анализ проведён без учёта этнической принадлежности и пола.

Проверку статистических гипотез проводили с помощью критерия  $\chi^2$  на уровне значимости  $p \leq 0,05$  (Armitage, Berry, 1994).

### Результаты и обсуждение

Аллель Q в изученном населении является более частым вариантом гена *PON-1*, чем аллель R. Частоты аллелей в общей выборке составляют  $p_Q=0,67$  и  $p_R=0,33$  (табл. 1). В группе лиц, чьи родители происходили из сёл Харьковской области, равняются  $p_Q=0,76$  и  $p_R=0,24$ , а у лиц, родители которых были городскими жителями,  $p_Q=0,63$  и  $p_R=0,37$  ( $p < 0,01$ ). Генетическое разнообразие, выраженное показателем дисперсии, у коренных горожан выше ( $s^2=0,233$ ) по сравнению с лицами, имеющими сельское происхождение ( $s^2=0,182$ ). Показательно, что генетическое разнообразие меньше у индивидов, чьи родители были односельчанами ( $s^2=0,166$ ), по сравнению с теми, у которых родители были из разных сёл ( $s^2=0,192$ ).

Хотя распределение генотипов в общей популяции статистически значимо не отличается от панмиксного, фактически наблюдается некоторый избыток гетерозигот QR и недостаток гомозигот QQ и RR. Различия становятся более выраженными, если анализ проводится с учётом происхождения обследуемых. В группе сельского происхождения имеется небольшой и статистически не значимый избыток гомозигот QQ и RR. У лиц городского происхождения доля гетерозигот QR на 24,4% выше

теоретически ожидаемого, гомозиготы  $QQ$  составляют 85% от теоретического значения, а гомозиготы  $RR$  – только 59% ( $\chi^2=4,36$ ,  $p<0,05$ ).

Повышенная гетерозиготность городского населения по сравнению с сельским – факт в популяционной генетике известный, однако отклонение от равновесного состояния требует специального рассмотрения. Избыток гетерозигот в популяции может быть обусловлен, по крайней мере, двумя причинами. Одна из них – отрицательная брачная ассортативность по признаку, ассоциированному с анализируемым локусом, так называемая вторичная ассортативность. Трудно, однако, представить природу такого признака, так как по большинству изученных к настоящему времени характеристик человека существует не отрицательная, а положительная брачная ассортативность, приводящая не к избытку, а к недостатку гетерозигот. Вторая причина – отбор в пользу гетерозигот кажется более реалистичной. Известно, что более устойчивыми к экстремальным условиям среды являются гетерозиготы, а само явление получило название гетерозис. Именно горожане проживают в непривычных для человека как биологического вида условиях, где и испытывают повышенное давление различного вида экстремальных нагрузок со стороны городской среды. Поскольку ранняя смертность в урбанизированном населении по сравнению с наблюдаемым избытком гетерозигот невелика, можно сделать предположение о том, что отбор, по-видимому, происходит на пренатальной стадии. В какой форме он осуществляется – в виде избирательного гетерогамного оплодотворения или путём элиминации гомозигот, в настоящее время сказать нельзя. Однако более правдоподобным представляется второй путь. Дело в том, что продукт гена  $PON-1$ , фермент  $PON-1$ , проявляет активность по отношению к широкому спектру субстратов.  $PON-1$  участвует в детоксикации органофосфатов, предупреждает атерогенные модификации липопротеинов низкой и высокой плотности и др. (Maskness et al., 1993; Горшунська, 2001; Draganov, La Du, 2004). Активный центр Q- и R-изоферментов проявляет неодинаковую активность в отношении разных субстратов (Gan et al., 1991; Koch et al., 2001). Повышенный изоферментный полиморфизм гетерозигот обеспечивает их устойчивость к более широкому спектру токсических веществ, чем каждой из гомозигот. Таким образом, отбор в пользу гетерозигот может происходить за счёт более вероятной элиминации гомозигот в химически более загрязнённой, чем сельская, городской среде.

Таблица 1.

Частоты генотипов и аллелей гена  $PON-1$ 

Происхождение родителей	n	Количество индивидов (теоретически ожидаемое для панмиксной популяции)			Частоты аллелей		$s^2$
		$QQ$	$QR$	$RR$	$Q$	$R$	
Одно село (I)	21	14 (13,1)	5 (7,0)	2 (0,9)	0,79	0,21	0,166
Разные сёла (II)	17	9 (9,3)	7 (6,6)	1 (1,1)	0,74	0,26	0,192
Сёла (I+II)	38	23 (21,9)	12 (13,9)	3 (2,2)	0,76	0,24	0,182
Один город (III)	27	6 (8,5)	18 (13,3)	3 (5,2)	0,56	0,44	0,246
Разные города (IV)	45	18 (20,2)	24 (19,9)	3 (4,9)	0,67	0,33	0,221
Города (III+IV)	72	24 (28,6)	42 (33,6)	6 (9,9)	0,63	0,37	0,233
Вся популяция	110	47 (49,4)	54 (48,6)	9 (12,0)	0,67	0,33	0,221
Статистики		$\chi^2_{st}=3,84$ ; $df=1$ ; сёла: $\chi^2=0,61$ , $p>0,05$ ; города: $\chi^2=4,36$ , $p<0,05$ ; вся популяция: $\chi^2=1,46$ , $p>0,05$ .			$\chi^2=11,5$ , $p<0,01$		

Примечание:  $n$  – число обследованных,  $p_Q$  и  $p_R$  – частоты аллелей  $Q$  и  $R$ ,  $\chi^2$  и  $\chi^2_{st}$  – фактическое и пороговое значение критерия,  $df$  – число степеней свободы,  $p$  – уровень значимости,  $QQ$ ,  $QR$ ,  $RR$  – генотипы.

### Выводы

1. Частоты аллелей  $R$  и  $Q$  гена  $PON-1$  в общем населении г. Харькова составляют 0,33 и 0,67.
2. У населения, имеющего сельское происхождения, частота аллеля  $Q$  ( $p=0,76$ ) выше, чем у населения, имеющего городское происхождение ( $p=0,63$ ).
3. Соотношение генотипов в группе сельского происхождения соответствует равновесному состоянию, а в группе, имеющей городское происхождение, наблюдается избыток гетерозигот.

### Список литературы

Горшунська М.Ю. Активність параоксонази у жінок, хворих на цукровий діабет 2 типу: кореляція з параметрами оксидативного стресу, ліпідного профілю та глікемічного контролю // Ендокринологія. – 2001. – Т.6, №2. – С. 160–165.

- Armitage P., Berry G. Statistical methods in medical research. – 3<sup>rd</sup> ed. – Blackwell Scientific Publications, 1994. – 620p.
- Draganov D.I., La Du B.N. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review // *Naunyn Schmiedelberg Arch. Pharmacol.* – 2004. – Vol.369. – P. 78–88.
- Gan K., Smolen A., Eskerson H. et al. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase evidence for one esterase catalyzing both activities // *Drug. Metab. Dispos.* – 1991. – Vol.19. – P. 100–106.
- GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. GenBank is the NIH genetic sequence database, an annotated collection of all publicly available DNA sequences.
- Koch M., Hering S., Barth C. Paraoxonase1 192 Gln/Arg gene polymorphism and cerebrovascular disease: interaction with type 2 diabetes // *Exp Clin. Endocrinol. Diabetes.* – 2001. – Vol.109. – P. 141–145.
- Mackness M.I., Arrol S., Abbot C., Durrington P.N. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase // *Atherosclerosis.* – 1993. – Vol.104. – P. 129–135.
- Ombres D., Pannitteri G., Montali A. et al. Gln-Arg192 polymorphism of human paraoxonase gene is not associated with coronary artery disease in Italian patients // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1998. – Vol.18. – P. 1611–1616.
- Walsh P.S., Metzger D.A., Higuchi R. Chelex 100 as a medium for extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material // *BioTechniques.* – 1991. – №10. – P. 506–513.
- Zhang B., Eto S., Fan P. et al. Paraoxonase (Pon1) Q192R polymorphism and serum PON1 activity in diabetic patients on maintenance hemodialysis // *Clin. Nephrol.* – 2003. – Vol.60 (4). – P. 257–265.

---

**Представлено: В.В.М'ясоєдовим**

**Рекомендовано до друку: Є.Е.Перським**

*Подано до редакції: 5.03.2009р.*

© Л.О.Атраментова, В.В.Полтораєв, Т.В.Тижненко, М.Ю.Горшунська, А.К.Почерняєв, 2009