

Ewa Raczek

Polimorfizm loci DQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 i GC w populacji Górnego Śląska.

DQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 and GC polymorphism in the Upper Silesia population.

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Śl. AM w Katowicach
p.o. Kierownik: prof. dr hab. H. Sybirska

Praca przedstawia dane populacyjne (Górnego Śląska) w zakresie 6 loci DQA1 i PM (Amplitype DQA1+PM kit z firmy Perkin Elmer). We wszystkich loci zachodzi zgodność rozkładu alleli z prawem Hardy'ego–Weinberga. Przeprowadzony test homogenności dla układu DQA1 wykazuje brak jednorodności 5 badanych polskich populacji.

This paper shows population data (from the Upper Silesia) on 6 loci DQA1 i PM (Amplitype DQA1+PM kit from Perkin Elmer). For all loci is no deviation from HWE. The homogeneity test for DQA1 system shows no homogeneity in 5 examined Polish populations.

WPROWADZENIE

Układ DQA1 (human leukocyte antigen) z locus na krótszym ramieniu 6 chromosomu (6p21.3) jest reprezentowany przez 8 alleli (6).

Badania populacyjne tego układu prowadzono zarówno w Europie (2, 7, 8, 12, 17, 18, 19) jak i wśród mieszkańców Ameryki Płn. (pochodzenia kaukazydzkiego i negroidalnego) (4), Japonii (4, 13), Chin (16) czy innych, bardziej egzotycznych populacji (6, 14).

Polymarker produkcji Perkin Elmer stanowi 5 niezależnych układów: LDLR z locus na 19 chromosomie, HBGG – na 11, D7S8 – na 7 i GYPA oraz GC – na 4 (4,7). O sprzężeniu alleli układów LDLR/HBGG i LDLR/D7S8 wspominają Hochmeister i wsp. (7); sprzężenie między parami układów PM przedstawiają również Kloosterman i wsp. (9). Polimorfizm układów PM oznaczono dla populacji kaukazydzkiej (3, 4, 5, 7, 9, 11, 15, 19), negroidalnej (4) i azjatyckiej (4, 13).

Celem pracy było przedstawienie wyników badań populacyjnych układów DQA1 i PM w regionie Górnego Śląska oraz – na podstawie badań własnych i dostępnych z publikacji (2, 12, 17, 18) – odpowiedź na pytanie, czy polska populacja jest jednorodna w zakresie układu DQA1.

MATERIAŁ I METODY

Fenotypy układów DQA1 i PM oznaczano u 102 niespokrewnionych osób dorosłych, zgłaszających się do Zakładu w sprawach spornego ojcostwa (51 spraw).

DNA izolowano metodą Kunkel'a i wsp. (10) z małymi modyfikacjami.

Polimorfizm DNA w zakresie loci DQA1 i PM (LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 i GC) oznaczano korzystając z zestawu odczynników Amplitype DQA1+PM amplification and typing kit firmy Perkin Elmer (PCR; reverse dot – blot).

Analizę statystyczną przeprowadzono stosując test χ^2 , liczony na podstawie częstości występowania alleli w poszczególnych układach (zgodność z prawem Hardy'ego – Weinberga), bądź z tabeli kontyngencji RxC (test homogenności badanych populacji) (1).

W układzie DQA1 do obliczeń statystycznych zgrupowano allele występujące w populacji górnośląskiej w następujące zespoły (biny): allele 1.1 i 1.3 to bin 1, 1.2 – 2; 2,3 – 3; 4 – 4. Zasadę tworzenia binów przyjęto za Turowską i wsp. (18), by móc porównać uprzednio zbadane populacje z własną. Także w celu porównania częstości występowania allelu DQA1 4 w populacji górnośląskiej i innych polskich populacjach, fenotypy D1QA1 4.1, 4.1; 4.1, 4.2 lub 4.3 i 4.2 lub 4.3, 4.2 lub 4.3 uznano za fenotyp 4,4.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Polimorfizm układu DQA1 w populacji górnośląskiej obrazuje tabela I. Najczęściej występującymi fenotypami w tym układzie są DQA1 3,4 i 4,4; najrzadziej – 1.1, 1.1; 1.3, 1.3 i 1.3, 3. W górnośląskiej populacji dorosłych nie wystąpił w ogóle fenotyp DQA1 2,2; pojawił się on jednak w populacji dzieci tego regionu.

Obliczone częstości występowania alleli w układzie DQA1 wskazują, iż najczęściej pojawia się allel 4; najrzadziej – 2. Populacja wykazuje zgodność rozkładu fenotypowego z prawem Hardy'ego – Weinberga ($\chi^2 = 9.61$; st.sw.=9; $p > 0.95$).

Tabela I. Częstość występowania alleli i fenotypów w układzie DQA1 oraz częstość utworzonych binów i „binowych” fenotypów w tym układzie (populacja górnośląska)

Table I. DQA1 phenotype and allele frequency and frequencies of the created bins and bin phenotypes (the Upper Silesia population)

fenotyp DQA1 phenotype	$n_{obs.}$	$n_{ocz.}$	Fenotyp DQA1 phenotype	$n_{obs.}$	$n_{ocz.}$	Fenotyp utworzonych binów; Phenotype of created bins	$n_{obs.}$	$n_{ocz.}$	Częstość alleli i utworzonych binów Alleles and created bins frequency
									DQA1*1.1=0.1373
1.1;1.1	1	1.92	1.2;4	9	13.00	1-1	7	6.63	DQA1*1.2=0.1912
1.1;1.2	8	5.36	1.3;1.3	1	1.41	1-2	12	9.95	DQA1*1.3=0.1176
1.1;1.3	5	3.29	1.3;2	2	2.23	1-3	8	11.47	DQA1*2=0.0931
1.1;2	3	2.61	1.3;3	1	3.06	1-4	18	17.34	DQA1*3=0.1275
1.1;3	2	3.57	1.3;4	10	8.00	2-2	5	3.73	DQA1*4=0.3333
1.1;4	8	9.33	2;3	3	2.42	2-3	8	8.60	$\chi^2=9.61$ st.sw.=19 p>0.95
1.2;1.2	5	3.73	2;4	8	6.33	2-4	9	13.00	DQA1*1=0.2550
1.2;1.3	4	4.59	3;3	2	1.66	3-3	5	4.96	DQA1*2=0.1912
1.2;2	3	3.63	3;4	11	8.67	3-4	19	14.99	DQA1*3=0.2205
1.2;3	5	4.97	4;4	11	11.33	4-4	11	11.33	DQA1*4=0.3333
									$\chi^2=4.30$ st.sw.=9 0.8<p<0.9

$Ht_{obs.} = 80,4\%$ $Ht_{ocz.} = 77,9\% \pm 4,1$ PD = 92,7%

$Ht_{obs.} = 80,4\%$ $Ht_{exp.} = 77,9\% \pm 4,1$ PD = 92,7%

Tabela II. Częstość alleli DQA1 w polskich i obcych populacjach

Table II. DQA1 allele frequency in the Polish and other populations

Populacja Population	polskie Polish					obce foreign			
	pomorsko-kujawska	warszawska	wrocławska	małopolska	górnośląska	szwajcarska	japońska	amerykańska American	
Allele								biała white	czarna black
DQA1*1.1	0.0891	0.160	0.14	0.104	0.1373	0.148	0.127	0.137	0.150
DQA1*1.2	0.2871	0.210	0.18	0.204	0.1912	0.193	0.164	0.197	0.263
DQA1*1.3	0.0345	0.083	0.07	0.080	0.1176	0.095	0.227	0.085	0.045
DQA1*2	0.2426	0.143	0.16	0.156	0.0931	0.150	0.005	0.109	0.121
DQA1*3	0.0891	0.110	0.13	0.112	0.1275	0.145	0.354	0.201	0.118
DQA1*4	0.2574	0.300	0.32	0.344	0.3333	0.270	0.123	0.271	0.304
n	202	420	306	250	204	400	220	826	448
Piśmiennictwo References	12	18	2	19	badania własne; this study	7	13		

Tabela III. Prawo Hardy'ego Weinberga w poszczególnych polskich populacjach i populacji będącej sumą tychże.

Table III. Hardy - Weinberg equilibrium in particular Polish populations and in the total Polish population.

Populacja Population	pomorsko- kujawska		warszawska		wrocławska		małopolska		górnśląska		ogólnopolska	
	$\Pi_{obs.}$ $\Pi_{obs.}$	$\Pi_{ocz.}$ $\Pi_{exp.}$	$\Pi_{obs.}$ $\Pi_{obs.}$	$\Pi_{ocz.}$ $\Pi_{exp.}$	$\Pi_{obs.}$ $\Pi_{obs.}$	$\Pi_{ocz.}$ $\Pi_{exp.}$	$\Pi_{obs.}$ $\Pi_{exp.}$	$\Pi_{ocz.}$ $\Pi_{exp.}$	$\Pi_{obs.}$ $\Pi_{obs.}$	$\Pi_{ocz.}$ $\Pi_{exp.}$	$\Pi_{obs.}$ $\Pi_{obs.}$	$\Pi_{ocz.}$ $\Pi_{exp.}$
1-1	1	1.55	13	12.39	5	6.70	3	4.232	7	6.63	29	30.21
1-2	9	7.18	18	21.37	14	11.50	5	9.384	12	9.95	58	60.85
1-3	9	8.30	17	25.75	18	18.62	16	12.328	8	11.47	68	78.20
1-4	5	6.43	41	30.12	22	20.50	19	15.824	18	17.34	105	89.50
2-2	3	8.32	7	9.22	5	4.94	4	5.202	5	3.73	24	30.65
2-3	25	19.24	28	22.21	13	15.99	14	13.668	8	8.60	88	78.76
2-4	18	14.93	28	25.97	18	17.61	24	17.544	9	13.00	97	90.14
3-3	5	11.11	18	13.38	15	12.94	7	8.978	5	4.96	50	50.59
3-4	23	17.25	25	31.29	28	28.50	23	23.048	19	14.99	118	115.82
4-4	3	6.69	15	18.30	15	15.70	10	14.792	11	11.33	54	66.28
Σ	101	101.00	210	210.00	153	153.00	125	125.00	102	102.00	691	691.00
χ^2 * st.sw.=9	14.08		13.09		1.99		8.73		4.30		9.56	
p	0.1 < p < 0.2		0.1 < p < 0.2		p > 0.99		0.3 < p < 0.5		0.8 < p < 0.9		0.3 < p < 0.5	

*- χ^2 liczone z częstości występowania utworzonych binów

*- χ^2 based on created bin frequency

Tabela IV. Czy polskie populacje wykazują homogenność w układzie DQA1?

Table IV. Are the Polish populations homogeneous at the DQA1 system?

Populacja vs populacja Population vs population	χ^2 *; st.sw.=9	p
pomorsko-kujawska vs warszawska	28.51	p < 0.001
pomorsko-kujawska vs wrocławska	25.70	0.001 < p < 0.01
pomorsko-kujawska vs małopolska	17.92	0.02 < p < 0.05
pomorsko-kujawska vs górnośląska	29.43	p < 0.001
warszawska vs wrocławska	9.46	0.3 < p < 0.5
warszawska vs małopolska	12.49	0.1 < p < 0.2
warszawska vs górnośląska	8.78	0.3 < p < 0.5
wrocławska vs małopolska	7.68	0.5 < p < 0.7
wrocławska vs górnośląska	6.24	0.7 < p < 0.8
małopolska vs górnośląska	14.25	0.3 < p < 0.5

*- χ^2 liczone z tabeli kontyngencji RxC przy 9 stopniach swobody metoda każdy z każdym

*- χ^2 based on the contyngency table RxC with 9 freedom degrees, calculated on the way one

with one

χ^2 liczone z tabeli kontyngencji RxC dla 5 polskich populacji i 10 binowych fenotypów DQA1

przy 36 stopniach swobody wynosi 61.89; $p < 0.005$

χ^2 based on the contyngency table RxC with 36 freedom degrees, calculated for all Polish

populations (5) and DQA1 bin phenotypes (10) is 61.89; $p < 0.005$

Tabela II obrazuje częstość występowania alleli układu DQA1 w pięciu polskich populacjach, a także w populacjach: azjatyckiej (Japonia), negroidalnej (Stany Zjednoczone – czarni Amerykanie) i kaukazoidalnej (Europa – Szwajcaria, Stany Zjednoczone – biali Amerykanie). Analiza danych zawartych w tabeli II pozwala zróżnicować częstość występowania alleli DQA1 w populacjach pochodzenia kaukazoidalnego od populacji azjatyckiej, czy w mniejszym stopniu – negroidalnej. Pozwala również zauważyć odmienną pomorsko – kujawskiej populacji od pozostałych polskich populacji. Mimo, iż wszystkie populacje spełniają prawo Hardy'ego – Weinberga z mniejszym lub większym prawdopodobieństwem; jak również nie odbiega od niego populacja polska utworzona z sumy poszczególnych populacji (tabela III), to wyraźnie widać, że statystycznie istotne różnice występują w 5 zbadanych polskich populacjach zarówno w teście każda z każdą (tabela IV) jak i w teście homogenności, liczonym na podstawie tabeli kontyngencji RxC ($\chi^2=61.89$; st.sw. = 36; $p < 0.005$). Turowska i wsp. (18) próbują wytłumaczyć tę odmienną zbyt małą liczebnością badanej próby. Dysponując podobną liczbą zbadanych osobników (Bydgoszcz – 101; Katowice – 102) porównano populację górnośląską z pozostałymi populacjami Polski i oprócz statystycznie istotnej odmienności od populacji pomorsko-kujawskiej, nie stwierdzono żadnych innych różnic. Dlatego też wytłumaczenia zjawiska należałoby szukać gdzie indziej.

Polimorfizm układów wchodzących w skład Polymarkera PM obrazuje tabela V. Rozkład fenotypów jest zgodny z częstościami alleli spełniając prawo Hardy'ego – Weinberga.

W populacji górnośląskiej odnotowano allel C w locus HBGG, choć nie obserwowano go ani w populacji Dolnego Śląska (3) ani szwajcarskiej (7) czy japońskiej (4, 13). Pojawił się natomiast u białych mieszkańców Stanów Zjednoczonych zarówno pochodzenia kaukazoidalnego jak i hiszpańskiego (4); powszechnie zaś występuje u Amerykanów pochodzenia negroidalnego (4). (Tabela VI).

Tabela V. Częstość występowania fenotypów w układach PM w populacji Górnego Śląska.

Table V. Phenotypes frequencies in PM systems (the Upper Silesia population).

Układ System	LDLR		GYPA		HBGG		D7S8		GC	
	№obs. №obs.	№ocz. №exp.	№obs. №obs.	№ocz. №exp.	№obs. №obs.	№ocz. №exp.	№obs. №obs.	№ocz. №exp.	№obs. №obs.	№ocz. №exp.
A	16	15.69	33	31.85	35	34.70	42	42.07	10	10.35
AB	48	48.63	48	50.29	48	49.00	47	46.87	12	10.20
B	38	37.68	21	19.86	18	17.29	13	13.06	2	2.51
AC	-				1	0.58	-		33	34.09
BC	-				0	0.41	-		16	16.79
C	-				0	0.00	-		29	28.06
χ^2	0.01; st.sw.=2		0.21; st.sw.=2		0.76; st.sw.=3		0.00; st.sw.=2		0.53; st.sw.=5	
p	p > 0.99		p = 0.90		0.8 < p < 0.9		p > 0.99		p > 0.99	

Tabela VI. Częstość występowania alleli w poszczególnych loci Polymarkera

Table VI. Allele frequency at the loci of Polymarker

Układ System		Populacja Population	Szwajcaria Switzerland	Japonia Japan	Ameryka Płn. North America		Polska Poland	
					Biali White	Czarni Black	Dolny Śląsk Lower Silesia	Górny Śląsk Upper Silesia
			n=100	n=110	n=200	n=200	n=205	n=102
LDLR	A		0.435	0.162	0.448	0.235	0.41	0.3992
	B		0.565	0.838	0.552	0.765	0.59	0.6078
GYPA	A		0.525	0.595	0.530	0.527	0.62	0.5588
	B		0.475	0.405	0.470	0.473	0.38	0.4412
HBGG	A		0.475	0.311	0.537	0.439	0.52	0.5833
	B		0.525	0.689	0.450	0.228	0.48	0.4118
	C		0.000	0.000	0.013	0.333	0.00	0.0049
D7S8	A		0.585	0.608	0.610	0.655	0.64	0.6422
	B		0.415	0.392	0.390	0.345	0.36	0.3578
GC	A		0.280	0.284	0.275	0.090	0.31	0.3186
	B		0.175	0.473	0.178	0.720	0.11	0.1569
	C		0.545	0.293	0.547	0.190	0.58	0.5245
Piśmiennictwo References			7	13	4	4	3	badania własne this study

Warto również zastanowić się nad przydatnością oznaczania multimarkera DQA1 i PM w sprawach dochodzenia ojcostwa i kryminalistycznych, na co zwrócili uwagę Helmuth i wsp. (6), Hochmeister i wsp. (7) oraz Nakajima i wsp. (13). W sprawach badanych w Katedrze Medycyny Sądowej Śl.A.M (51 spraw), w każdym przypadku wyłączenia ojcostwa, w którym oznaczano również DQA1 i PM, zawsze stwierdzano wykluczenie pozwanego na podstawie jednego z 6

loci. Najczęściej wykluczano niesłusznie pozwanego zarówno w DQA1 jak i PM (8 spraw), rzadziej tylko w PM (7 spraw), zaś tylko w 4 sprawach w DQA1. W tych samych sprawach, obligatoryjnie zastosowano układ D1S80 i obserwowano wykluczenie tylko 57% niesłusznie pozwanych mężczyzn. Kombinowana siła dyskryminacji PD liczona zgodnie z Fildesem i wsp. (4) dla DQA1 i PM w górnośląskiej populacji wynosi 99,9%, podczas gdy dla układu D1S80 tylko 94,1%. Natomiast heterozygotyczność obserwowana dla poszczególnych loci DQA1 i PM jest znacznie niższa niż dla D1S80 (odpowiednio : 80,4% dla DQA1; 47,1% – LDLR, GYPA; 48% – HBGG; 46,1% – D7S8; 59,8% – GC i 84,2% dla D1S80). Przyjmując za Fildesem i wsp. (4) i Hochmeisterem i wsp. (7), że allele z loci DQA1 i PM nie są sprzężone, to układ ten obejmuje 20 alleli (19 oznaczalnych), czyli liczbę porównywalną z liczbą alleli układu D1S80 (w populacji górnośląskiej obserwowano 19 alleli w układzie D1S80). We wszystkich badanych parach: matka – dziecko wystąpiło dziedziczenie cech zgodne z prawami Mendla. Dlatego też mimo niezbyt chętnego wykorzystywania multimarkera DQA1 i PM przez polskie środowisko hemogenetyków, w Katedrze Medycyny Sądowej Śl.A.M. stosuje się ten zestaw markerów genetycznych w sprawach dochodzenia ojcostwa, szczególnie tych z trudnościami orzeczniczymi. Ograniczeniem zasadnym stosowania DQA1 i PM wydaje się być tylko rachunek ekonomiczny.

PIŚMIENNICTWO

1. Armitage P.: Metody statystyczne w badaniach medycznych. PZWL, Warszawa, 1978. – 2. Dmochowska G.: Częstości alleli i genotypów HLA DQ alfa w badanej próbie polskiej populacji. Arch. Med. Sąd. i Krym., 1994, 44, 405–407. – 3. Dmochowska G., Dobosz T., Świątek B.: Częstości występowania cech DNA oznaczonych w teście Polymarker w próbie populacji polskiej. Postępy Med. Sąd. i Krym., 1997, 3, 319–321. – 4. Fildes N., Reynolds R., Erlich H.A.: In preparation, Roche Molecular System, Inc. (cyt. za Amplitype PM+DQA1 PCR amplification and typing kits). – 5. Hausmann R., Hantschel M., Lotterle J.: Frequencies of the 5 PCR-based genetic markers LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 and GC in a North Bavarian population. Int. J. Legal Med., 1995, 107, 227–228. – 6. Helmuth R., Fildes N., Blake E., Luce M.C., Chimera J., Madej R., Gorodezky C., Stoneking M., Schmill N., Klitz W., Higuchi R., Erlich H.A.: HLA-DQalpha allele and genotype frequencies in various human populations, determined by using enzymatic amplification and oligonucleotide probes. Am. J. Hum. Genet., 1990, 47, 515–523. – 7. Hochmeister M.N., Budowle B., Borer U.V., Dirrhofer R.: Swiss population data on the loci HLA-DQalpha, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 and GC. Int. J. Legal Med., 1996, 108, 280–282. – 8. Iriundo M., Manzano C., de la Rua C.: HLA-DQA1 in autochthonous Basques: description of a genocline for the DQA1*0201 allele in Europe. Int. J. Legal Med., 1996, 109, 181–185. – 9. Kloosterman A.D., Sjerps M., Wust D.: Caucasian population data on the loci LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 and GC. Int. J. Legal Med., 1995, 108, 36–38. – 10. Kunkel L.M., Smith K.D., Boyer S.H., Borgaonkar D.S., Wachtel S.S., Miller O.J.,

Berg W.R., Jones H.W., Rary J.M.: Analysis of human Y-chromosome specific reiterated DNA in chromosome variants. *Proc. Natl. Sci. USA.*, 1977, 74, 1245–1249.

11. Martinez-Jarreta B., Abecia E., Bell B., Casalo Y., Castellano M., Hinojal R.: Frequencies of the five PCR-based genetic markers LDLR, GYPA, HBG, D7S8 and GC in the population of Asturias (North Spain). *Int. J. Legal Med.*, 1997, 110, 41–43. – 12. Miścicka-Śliwka D., Pleszyńska B.: Polimorfizm locus HLA-DQA1 w populacji regionu pomorsko-kujawskiego. *Postępy Med. Sąd. i Krym.*, 1997, 3, 315–318. – 13. Nakajima T., Matsuki T., Ohkawara H., Nara M., Furukawa K., Kishi K.: Evaluation of 7 DNA markers (D1S80, HLA-DQalpha, LDLR, GYPA, HBG, D7S8 and GC) in Japanese population. *Int. J. Legal Med.*, 1996, 109, 47–48. – 14. Stringer P., Friggs C.M., Baldwin L.C., Melia L.M., Savil M.G.: Distribution of HLA DQA1 alleles in New Zealand Caucasian Maori and Pacific Islander populations. Comparison with other population studies. *Int. J. Legal Med.*, 1995, 108, 2–7. – 15. Tagliabracci A., Buscemi L., Cerri N., Cucurachi N., Lombardi R., Mignola R., Neri T.M., Vecchiotti C., De-Ferrari F., Masotti G., Rodriguez D., Umani-Ronchi G.: Italian population data on the loci LDLR, GYPA, HBG, D7S8 and GC. *Int. J. Legal Med.*, 1996, 109, 161–162. – 16. Tie J., Oshida S., Chiba S., Tsukamoto S., Sebetan I.M.: Frequency of D1S80 and HLA DQalpha alleles in Chinese population. *Int. J. Legal Med.*, 1995, 108, 170–171. – 17. Tucholska-Lenart A., Miąskiewicz H., Suszczewski W., Wujec J.: Badania częstotliwości występowania genotypów HLA locus DQA1 w populacji warszawskiej. *Problemy Kryminalistyki*, 1994, 206, 14–16. – 18. Turowska B., Sanak M., Nowicka L., Tarajko B.: Polimorfizm locus HLA DQA1 w populacji Polski Południowej. *Arch. Med. Sąd. i Krym.*, 1996, 46, 261–268. – 19. Woller J., Budowle B., Furedi J., Podar Z.: Hungarian population data on the loci HLA-DQalpha, LDLR, GYPA, HBG, D7S8 and GC. *Int. J. Legal Med.*, 1996, 108, 280–282.

Adres autora:

Katedra Medycyny Sądowej Śl.A.M.
40–752 Katowice
ul. Medyków 18