

Г.Б. ЛІВШИЦЬ, А.М. КУЧЕРЕНКО,
С.С. ПОДЛЕСНА, С.А. КРАВЧЕНКО, Л.А. ЛІВШИЦЬ
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ
E-mail: livshits@imbg.org.ua

АНАЛІЗ АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА *ESR1* СЕРЕД НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ



Проведено аналіз мононуклеотидних замін А351G, С397Т та кількості ТА-повторів гена ESR1 серед 199 здорових волонтерів з України. Отримано дані стосовно розподілу генотипів та окремих алелів поліморфних варіантів. Обговорюються можливі механізми ролі наведених поліморфних варіантів у зміні транскрипції гена ESR1 та експресії естрогенового рецептора.

© Г.Б. ЛІВШИЦЬ, А.М. КУЧЕРЕНКО, С.С. ПОДЛЕСНА,
С.А. КРАВЧЕНКО, Л.А. ЛІВШИЦЬ, 2012

Вступ. Естрогени – група жіночих статевих гормонів. До природних естрогенів відносять естрон, естрадіол і естріол, а також еквіленін та еквілін. Дія естрогенів в клітині опосередкована їхнім зв'язуванням із одним з двох специфічних рецепторів α чи β , що є ліганд-залежними транскрипційними факторами і належать до суперродини ядерних рецепторів [1]. Ці рецептори є продуктами різних генів – *ESR1* та *ESR2*, локалізованих відповідно в ділянках 6q25.1 і 14q23.2 [2]. Важливо зауважити, що патерн експресії генів естрогенових рецепторів в різних тканинах значно відрізняється. Ген *ESR1* переважно експресується в ендометрії, клітинах раку молочної залози, стромальних клітинах яєчника та гіпоталамусі [3, 4], в простаті та яєчках у чоловіків [5], а також у кістках [6], ендотелії [7], печінці [8], гладеньких м'язах судин [9], очах [10] і нирках [11]. Експресія *ESR2* виявлена в нирках, грудях, яєчниках, яєчках, мозку, кістках, серці, легенях, простаті та ендотеліальних клітинах [9, 12].

Walter et al. [13] у 1985 р. картували ген *ESR1* на хромосомі 6, а Menasce et al. [2] у 1993 р. встановили його точну локалізацію – 6q25.1. Ponglikitmongkol et al. [14] у 1988 р. показали, що послідовність згаданого гена становить понад 140 тис.п.н., і він містить 8 екзонів та 9 інтронів. Детальний опис структури гена *ESR1* наданий у роботі Kos et al. у 2001 р. [15], згідно з якою цей ген містить щонайменше сім різних промоторів, транскрипція з яких призводить до утворення різноманітних транскриптів із варіюючою довжиною 5'-нетрансльованої ділянки. В результаті альтернативного сплайсингу це різноманіття значно скорочується за рахунок наявності одного домінуючого акцепторного сайту [16]. Найпоширенішим продуктом гена *ESR1* є білок, що містить 595 амінокислотних залишків молекулярною масою 66 кД [15, 16].

Більшість мутацій, що знайдені в гені *ESR1*, зустрічаються в АF-1 та ліганд-зв'язуючому домені. В ряді досліджень показано, що ці мутантні варіанти найчастіше асоційовані з раком молочної залози та раком ендометрію [17–29] (табл. 1).

Цілим рядом дослідників було встановлено роль мононуклеотидних замін С397Т (*PvuII* поліморфізм) та А351G (*XbaI* поліморфізм) в 1-му інтроні гена *ESR1*, а також кількості

ТА-повторів у промоторі гена *ESR1* в розвитку остеопорозу, ендометріозу, раку простати, спонтанних абортів, передчасного виснаження яєчників (ПВЯ), відповіді на стимуляцію овуляції та при серцево-судинних патологіях [30–35]. Дослідження вказаних поліморфних варіантів у популяціях є важливим для пошуку маркерів мультифакторних патологій, до патогенезу яких вони можуть бути залучені.

Мета дослідження – аналіз розподілу поліморфних варіантів С397Т, А351G та кількості ТА-повторів гена *ESR1* серед населення України.

Матеріали і методи. Аналіз поліморфних варіантів С397Т, А351G 1-го інтрона та кількості ТА-повторів з промоторної ділянки гена *ESR1* проводили серед 199 здорових волонтерів з України. Зразки крові для дослідження взято після отримання інформованої згоди кожного з учасників обстежуваної групи.

Виділення та очищення ДНК периферичної крові здійснювали за допомогою стандартного методу – гідролізу лізатів клітин

протеїназою К з наступною фенольною екстракцією [36].

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили в автоматичному режимі на термоциклері «GeneAmp PCR system 2400» («Applied Biosystems», США), а також на ампліфікаторах «GeneAmp PCR system 2700», «GeneAmp PCR system 2720» («Applied Biosystems», США).

Для аналізу послідовності ділянки ДНК гена *ESR1*, що містить мононуклеотидні заміни А351G (*Xba*I поліморфізм) та С397Т (*Pvu*II поліморфізм) в 1-му інтроні, ПЛР проводили з використанням олігонуклеотидних праймерів (*forward* – AgggTTATgTggCATgACg, *reverse* – ACCCTggCgTCgATTATCTg). Для проведення ПЛР використовували наступну схему: додаткова денатурація – 5 хв при 94 °С; 28 циклів: денатурація ДНК – 45 с при 94 °С, відпалювання праймерів – 45 с при 60 °С, елонгація – 45 с при 72 °С; фінальна елонгація – 7 хв при 72 °С. Наявність продуктів ампліфікації візуалізували за допомогою електрофорезу в 1,8%-ному агарозному гелі.

Таблиця 1

Точкові мутації в гені *ESR1*, знайдені у пацієнтів

Мутація	Домен	Захворювання
H6Y	AF-1	Психічне порушення [17]
S47T	»	Рак молочної залози [18]
156-стоп	»	X-подібні кінцівки [19]
N69K	»	Рак молочної залози [20]
A86V	»	Рак молочної залози [21]
P146Q	»	Психічне порушення [17]
G160C	»	Психічне порушення [17]
S193P	ДНК-зв'язуючий	Рак ендометрію [22]
L296P	AF-2a, D	Рак молочної залози [23]
K299R	»	Психічне порушення [17]
K303R	»	Рак молочної залози [24]
E352V	Ліганд-зв'язуючий, AF-2	Рак молочної залози [25]
M396V	»	Рак молочної залози [26]
G415V	Ліганд-зв'язуючий	Рак ендометрію [22]
437стоп	»	Рак молочної залози [25]
N463P	»	Еритематоз [27]
K531E	Ліганд-зв'язуючий, AF-2	Рак молочної залози [18]
Y537N	Ліганд-зв'язуючий	Рак молочної залози [18]
Y537S	»	Рак ендометрію [28, 29]

Примітка. В таблиці наведено заміни у послідовності білка, тому вказані назви амінокислот подано за міжнародною номенклатурою.

Для подальшого аналізу мононуклеотидних замін гена *ESR1* у випадку успішного проведення ПЛР в проби додавали по 3 міжнар. од. акт. ендонуклеази рестрикції *XbaI* (для аналізу мононуклеотидної заміни А351G) чи по 3 міжнар. од. акт. ендонуклеази рестрикції *PvuII* (для аналізу мононуклеотидної заміни С397Т) та інкубували при 37 °С протягом 12 год. Продукти гідролізу ампліфікованих послідовностей аналізували за допомогою електрофорезу в 2%-ному агарозному гелі. Як маркери використовували 100 Base-Pair Ladder. Гелі забарвлювали бромистим етидієм і сканували на УФ-транслюмінаторі.

За результатами аналізу мононуклеотидної заміни А351G методом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) індивідів розподілили на три групи: XX (351GG), Xx (351AG) та xx (351AA). У випадку мутації з'являється один з сайтів впізнання для ендонуклеази *XbaI*. Тому у індивідів без мононуклеотидної заміни 351GG (XX-генотип) спостерігали фрагмент довжиною 522 п.н., у гетерозиготних носіїв мононуклеотидної заміни 351AG (Xx-генотип) – рестрикційні фрагменти довжиною 522, 381, 141 п.н., а у гомозиготних носіїв мононуклеотидної заміни 351AA (xx-генотип) – рестрикційні фрагменти довжиною 381 та 141 п.н. (рис. 1).

В результаті аналізу ПДРФ мононуклеотидної заміни С397Т також сформувавши три групи індивідів: PP (397CC), Pp (397CT) та pp (397TT). У випадку мононуклеотидної заміни з'являється один з сайтів впізнання для ендонуклеази *PvuII*. Тому у індивідів без мононуклеотидної заміни 397CC (PP-генотип) спостерігали фрагмент довжиною 522 п.н., у гетерозиготних носіїв мононуклеотидної заміни 397CT (Pp-генотип) – рестрикційні фрагменти довжиною 522, 426, 96 п.н., а у гомозиготних носіїв мононуклеотидної заміни 397TT (pp-генотип) – рестрикційні фрагменти довжиною 426 та 96 п.н. (рис. 2).

Для аналізу кількості ТА-повторів промоторної ділянки гена *ESR1* ПЛР-продукти, що отримані з використанням Су-5 мічених олігонуклеотидних праймерів (*forward* – AgACgCATgATATACTTCACC, *reverse* – Cy5-CCTACAACCTCgATCTTCTCg), аналізували на автоматичному лазерному флуориметрі ALF-

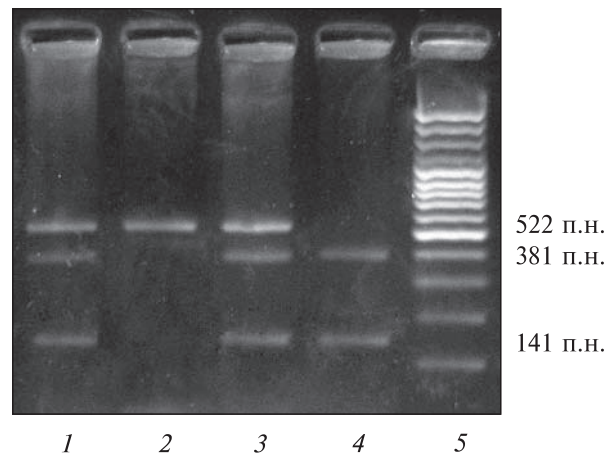


Рис. 1. Електрофореграма рестрикційних *XbaI* фрагментів продукту ампліфікації 1-го інтрону гена *ESR1*: 1, 3 – індивід з Xx-генотипом; 2 – індивід з XX-генотипом; 4 – індивід з xx-генотипом; 5 – маркер молекулярної маси (Ladder 100 bp)

express (рис. 3, а). Контроль аналізованої послідовності здійснювали за допомогою повного секвенування нуклеотидної послідовності продукту ампліфікації промоторної ділянки гена *ESR1* (рис. 3, б).

Частоти алелів та теоретично очікуваний розподіл генотипів розраховували за методом, запропонованим Лі [37], показники фактичної і теоретичної гетерозиготності та стандартну похибку – за формулами, запропонованими Неєм [38]. Для виявлення значимих відмінностей між досліджуваними групами використовували критерії Ст'юдента та Фішера [39]. Розрахунки здійснювали з використанням пакетів комп'ютерних програм «GENEPOP» [40], «ARLEQUIN» [41] та «MDR» [42]. За умов відсутності даних про фазу зчеплення аналіз нерівноваги за зчепленням проводили за допомогою к «ARLEQUIN» [43].

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті молекулярно-генетичного аналізу мононуклеотидних замін А351G та С397Т в 1-му інтроні гена *ESR1* в групі пацієнтів ($n = 199$) встановлено розподіл генотипів та алельних варіантів досліджуваних поліморфізмів (табл. 2 та 3).

Важливо зазначити, що виявлений нами розподіл генотипів за даною мононуклеотидною заміною відрізнявся від розподілу в інших популяціях світу (табл. 2) [44–46]. Час-

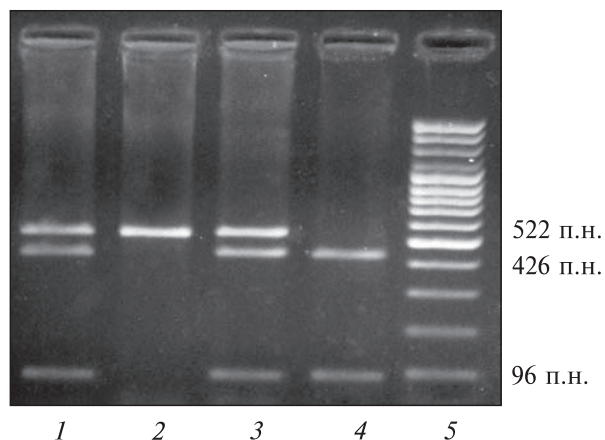


Рис. 2. Електрофореграма рестрикційних *PvuII* фрагментів продукту ампліфікації 1-го інтрону гена *ESRI*: 1, 3 – індивід з Rr-генотипом; 2 – індивід з PP-генотипом; 4 – індивід з rr-генотипом; 5 – маркер молекулярної маси (Ladder 100 bp)

тота (40,2 %) генотипу xx (AA) в популяції України є статистично вірогідно вищою ($p < 0,001$), ніж частота (5,6 %) цього генотипу в популяціях Бразилії та Тайваню. Статистично вірогідними ($p < 0,001$ та $p < 0,01$ відповідно) також були відмінності в розповсюдженні генотипу rr (TT) між популяціями України (25,6 %) та Тайваню (5,5 %) і популяцією Бразилії (37,8 %). Різниця між частотою досліджуваних генотипів в наведених популяціях може бути пов'язана з різним етнічним походженням населення цих країн.

За результатами аналізу відповідності фактичних частот генотипів за локусами *XbaI* та

PvuII теоретично очікуваним встановлено, що у досліджуваній групі розподіл генотипів відповідав рівновазі за Харді-Вайнбергом. За t-критерієм Ст'юдента нами не виявлено статистично вірогідної різниці між показником фактичної та теоретично очікуваної гетерозиготності за локусами *XbaI* та *PvuII* ($p > 0,05$) (табл. 4).

Оскільки поліморфні варіанти A351G та C397T розташовані в одному інтроні (1-й інтрон) гена *ESRI*, нами проведено аналіз зчеплення між цими поліморфними локусами із використанням методу likelihood-ratio test [43]. За відсутності даних про визначену фазу зчеплення цей метод надає можливість оцінювати нерівновагу за зчепленням, яку можна здійснити лише при проведенні сімейного аналізу. Завдяки проведеному розрахунку встановлено статистично вірогідну нерівновагу за зчепленням між поліморфними локусами *XbaI* та *PvuII* ($p < 0,0001$). Розподіл комбінованих генотипів за мононуклеотидними замінами A351G та C397T в 1-му інтроні гена *ESRI* наведено в табл. 5.

Встановлено, що частота комбінованих гомозиготних генотипів rrxх (TTAA) та PPXX (CCGG) в популяції України становила 24,6 та 13,6 % відповідно.

З метою вивчення розповсюдження серед населення України алельних варіантів з різною кількістю копій ТА-повторів, локалізованих у промоторі гена *ESRI*, був проведений аналіз варіювання кількості копій динуклеотидних ТА-повторів серед 105 індивідів

Таблиця 2

Розподіл генотипів за мононуклеотидними замінами A351G та C397T гена *ESRI* в популяції України та інших країн світу

Досліджувана популяція	Генотип, %						
	Індивіди, n	xx (AA)	Xx (AG)	XX (GG)	pp (TT)	Pp (CT)	PP (CC)
Україна	199	40,2	46,2	13,6	25,6	50,3	24,1
Тайвань [44]	110	1,8	64,6	33,6	5,5	40	54,5
Великобританія [45]	206	43,7	43,2	13,1	18	49,5	32,5
Бразилія [46]	142	5,6	47,6	46,8	37,8	50,3	11,9

Примітка. x – 351A варіант, що призводить до утворення рестрикційного сайту, X – 351G варіант, що призводить до зникнення рестрикційного сайту, p – 397T варіант, що призводить до утворення рестрикційного сайту, P – 397C варіант, що призводить до зникнення рестрикційного сайту.

з досліджуваної групи. В результаті виявлено 16 поліморфних варіантів ТА-повторів, які містили від 9 до 25 копій. Найчастіше зустрічався алель, який містив 14 копій ТА-повторів (24,8 %) (рис. 4). Подібні закономірності розподілу алельних варіантів ТА-повторів спостерігалися в популяції Великобританії [45].

В досліджуваній групі нами виявлено 50 варіантів генотипів. Найчастіше зустрічався генотип, що є гомозиготою за алелями з 14 ТА-повторами (8,6 %). Не виявлено статистично вірогідної різниці між показником фактичної ($H_o = 0,7810 \pm 0,0404$) та теоретично очікуваної гетерозиготності ($H_e = 0,8749 \pm 0,0108$), на що вказувало значення t-критерію Ст'юдента ($t_{st} = 2,2476$; $p > 0,05$).

Необхідно наголосити, що на сьогодні не існує чіткої гіпотези, яка пояснює зв'язок між досліджуваними поліморфізмами та функціональними особливостями кодованого продукту гена *ESR1*. Herrington et al. [34] запропонували гіпотезу, що заміна 397C→T призводить до зникнення потенційного зв'язувального сайту для туб транскрипційних факторів, які у присутності В-туб здатні в експериментах *in vitro* пришвидшувати транскрипцію у 10 разів, що в свою чергу призводить до менш інтенсивної експресії гена естрогенового рецептора. Іншим поясненням асоціації цих поліморфізмів з патологіями є припущення про те, що ці поліморфізми можуть бути зчеплені з іншими функціонально важливими поліморфізмами в гені *ESR1* або в сусідніх генах. Якщо вказані поліморфізми дійсно асоційовані з меншим рівнем експресії гена естрогенового рецептора, то це в свою чергу призведе до зниження інтенсивності проведення сигналу від естрогена, який бере участь у негативній регуляції рівня ФСГ, а в результаті до підвищення рівня ФСГ та зниження фізіологічного резерву яєчників – основної причини їхньої дисфункції. В дослідженнях Altmae et al. [47] продемонстровано, що поліморфні варіанти гена *ESR1* є потенційним генетичним чинником для жіночої безплідності. Естрогени здійснюють позитивний вплив на стан судин за рахунок модифікації складу циркулюючих ліпопротеїдів, змін в каскаді коагуляції крові, інгібування інтра-

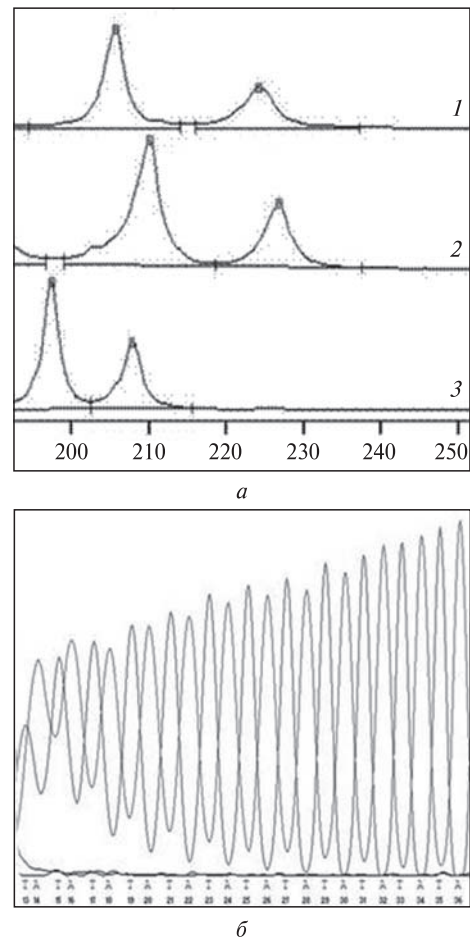


Рис. 3. Флуорограма продуктів ампліфікації послідовності ДНК в ділянці ТА-повторів промотора гена *ESR1* (а) та хроматограма секвенування послідовності 1-го інтрону гена *ESR1* із зображенням ділянки з 12 ТА-повторами (б): 1 – індивід з 13 і 21 повторами; 2 – індивід з 17 і 25 повторами; 3 – індивід з 10 і 15 повторами

Таблиця 3
Розподіл алелів у досліджуваних групах за поліморфними локусами *Xba*I та *Pvu*II

Алель	Індивіди (n = 398)
x (A)	252 (63,3 %)
X (G)	146 (36,7 %)
p (C)	202 (50,8 %)
P (T)	196 (49,2 %)

Примітка. x та p – наявність рестрикційного сайту, X та P – відсутність рестрикційного сайту.

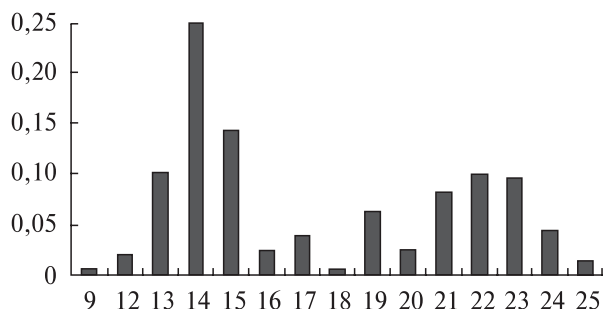


Рис. 4. Розподіл ТА-повторів: по вертикалі – частота алеля, по горизонталі – кількість ТА-повторів

Таблиця 4
Фактична гетерозиготність та відносне відхилення від теоретичної гетерозиготності за локусами *XbaI* та *PvuII*

Локус	Гетерозиготність		D	t _{st}
	H _o	H _e		
<i>XbaI</i>	0,4623 ± 0,0353	0,4645 ± 0,0129	-0,0048	0,0590
<i>PvuII</i>	0,5025 ± 0,0354	0,4999 ± 0,0019	+0,0053	0,0740

Примітка. H_o – фактична гетерозиготність; H_e – теоретична гетерозиготність; D – відхилення від теоретичної гетерозиготності; t_{st} – значення критерію Ст'юдента.

Таблиця 5
Розподіл комбінованих генотипів за мононуклеотидними замінами A351G та C397T гена *ESR1*

Генотипи	Індивіди, n	%
ppxx (TTAA)	49	24,6
PPxx (CCAA)	6	3,0
Ppxx(CTAA)	25	12,6
ppXx (TTAG)	2	1,0
PPXx (CCAG)	15	7,5
PpXx(CTAG)	75	37,7
PPXX(CCGG)	27	13,6
PpXX(CTGG)	0	0,0
ppXX(TTGG)	0	0,0

васкулярного накопичення колагену, антипроліферативного та вазодилаторного ефекту на клітини гладеньких м'язових судин, а також інгібування запальних процесів [48].

Встановлено, що постменопаузальне зниження рівня естрогенів призводить до зменшення кардіопротекторного ефекту та сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції. За таких умов додаткове порушення проведення сигналів у каскаді за участі естрогенового рецептора α може сприяти розвитку дисфункції ендотелію судин та, як наслідок, підвищувати ризик розвитку інсульту у жінок.

Різними дослідниками отримано суперечливі дані про роль ТА-повторів у розвитку дисфункції яєчників [46, 49]. Припускається, що ТА-повтори також мають значний вплив на регуляцію транскрипції гена *ESR1*. На сьогодні в цьому гені ідентифіковано три різних промотори і передбачається, що на цих промоторах існує декілька сайтів ініціації транскрипції [50].

Оскільки промотор, який містить ТА-повтори, розташований між двома іншими, було запропоновано гіпотезу, що довжина його послідовності впливає на ефективне розташування інших промоторів. Крім того, в 5'-регіоні гена *ESR1*, приблизно на відстані 220 п.н. від тандемних повторів, був ідентифікований новий регуляторний елемент [51]. Передбачається, що цей елемент відіграє роль енкансера в декількох клітинних лініях, і його вплив на транскрипцію залежить від кількості ТА-повторів, натомість не було знайдено чіткої асоціації між певною визначеною кількістю ТА-повторів та рівнем транскрипції.

Таким чином, дослідження популяційних особливостей алельного поліморфізму гена *ESR1* є вкрай актуальним для подальшого вивчення функціонального значення окремих поліморфних варіантів та їхнього залучення до патогенезу різних захворювань.

Висновки. Отримано дані про особливості алельного поліморфізму гена *ESR1* серед населення України. Визначено частоту розповсюдження генотипів та окремих алелів за поліморфними локусами *XbaI* та *PvuII*. Ці дані є вагомим підґрунтям для подальшого вивчення згаданих поліморфних варіантів серед груп пацієнтів з різними мультифакторними патологіями і, в першу чергу, з такими вкрай актуальними патологічними станами, як безплідність та серцево-судинні патології.

G.B. Livshyts, A.M. Kucherenko,
S.S. Podlesnaja, S.A. Kravchenko, L.A. Livshits

ESR1 GENE ALLELIC POLYMORPHISM
ANALYSIS IN POPULATION OF UKRAINE

In this study analysis of single nucleotide polymorphisms A351G, C397T and number of TA-repeats in *ESR1* gene among 199 healthy volunteers from Ukraine was performed. Data concerning genotypes and particular alleles of polymorphic variants distribution were obtained. Possible mechanisms of these polymorphic variants role in *ESR1* gene transcription and estrogen receptor expression changes are being discussed.

А.Б. Лившиц, А.М. Кучеренко,
С.С. Подлесная, С.А. Кравченко, Л.А. Лившиц

АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА
ГЕНА *ESR1* СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ УКРАИНЫ

Проведен анализ мононуклеотидных замен A351G, C397T и количества ТА-повторов гена *ESR1* среди 199 здоровых волонтеров из Украины. Получены данные относительно распределения генотипов и отдельных аллелей полиморфных вариантов. Обсуждаются возможные механизмы роли указанных полиморфных вариантов в изменении транскрипции гена *ESR1* и экспрессии эстрогенового рецептора.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Matthews J., Gustafsson J.A. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta // *Mol. Interv.* – 2003. – 3, № 5. – P. 281–292.
2. Menasce L.P., White G.R.M., Harrison C.J. et al. Localization of the estrogen receptor locus (*ESR*) to chromosome 6q25.1 by FISH and a simple post-FISH banding technique // *Genomics.* – 1993. – 17, № 1. – P. 263–265.
3. Couse J.F., Lindzey J., Grandien K. et al. Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor- α and estrogen receptor- β messenger ribonucleic acid in the wild-type and ER{alpha}-Knockout Mouse // *Endocrinology.* – 1997. – 138, № 11. – P. 4613–4621.
4. Yaghmaie F., Saeed O., Garan S.A. et al. Caloric restriction reduces cell loss and maintains estrogen receptor- α immunoreactivity in the pre-optic hypothalamus of female B6D2F1 mice // *Neuro Endocrinol Lett.* – 2005. – 26, № 3. – P. 197–203.
5. Yanai I., Benjamin H., Shmoish M. et al. Genome-wide midrange transcription profiles reveal expression level relationships in human tissue specification // *Bioinformatics.* – 2005. – 21, № 5. – P. 650–659.
6. Eriksen E.F., Colvard D.S., Berg N.J. et al. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells // *Science.* – 1988. – 241, № 4861. – P. 84–86.
7. Venkov C.D., Rankin A.B., Vaughan D.E. Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells: a potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function // *Circulation.* – 1996. – 94, № 4. – P. 727–733.
8. Koritnik D.R., Koshy A., Hoversland R.C. 17 beta-estradiol treatment increases the levels of estrogen receptor and its mRNA in male rat liver // *Steroids.* – 1995. – 60, № 8. – P. 519–529.
9. Hodges Y.K., Tung L., Yan X.D. et al. Estrogen receptors alpha and beta: prevalence of estrogen receptor beta mRNA in human vascular smooth muscle and transcriptional effects // *Circulation.* – 2001. – 101, № 15. – P. 1792–1798.
10. Davis V.L., Chan C.C., Schoen T.J. et al. An estrogen receptor repressor induces cataract formation in transgenic mice // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2002. – 99, № 14. – P. 9427–9432.
11. Shim G.J., Kis L.L., Warner M. et al. Autoimmune glomerulonephritis with spontaneous formation of splenic germinal centers in mice lacking the estrogen receptor a gene // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2004. – 101, № 6. – P. 1720–1724.
12. Enmark E., Gustafsson J.A. Oestrogen receptors – an overview // *J. Intern. Med.* – 1999. – 246, № 2. – P. 133–138.
13. Walter P., Green S., Greene G. et al. Cloning of the human estrogen receptor cDNA // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1985. – 82, № 23. – P. 7889–7893.
14. Ponglikitmongkol M., Green S., Chambon P. Genomic organization of the human oestrogen receptor gene // *EMBO J.* – 1988. – 7, № 11. – P. 3385–3388.
15. Kos M., Reid G., Denger S. et al. Minireview: genomic organization of the human ER-alpha gene promoter region // *Mol. Endocr.* – 2011. – 15, № 12. – P. 2057–2063.
16. Reid G., Denger S., Kos M. et al. Human estrogen receptor-alpha: regulation by synthesis, modification and degradation // *Cell Mol. Life Sci.* – 2002. – 59, № 5. – P. 821–831.
17. Feng J., Yan J., Michaud S. et al. Scanning of estrogen receptor α (ER α) and thyroid hormone receptor α (TR α) genes in patients with psychiatric diseases: four missense mutations identified in ER α gene // *Amer. J. Med. Genet.* – 2001. – 105, № 4. – P. 369–374.
18. Zhang Q.X., Borg A., Wolf D.M. et al. An estrogen receptor mutant with strong hormone-independent activity from a metastatic breast cancer // *Cancer Res.* – 1997. – 57, № 7. – P. 1244–1249.

19. *Smith E.P., Boyd J., Frank G.R. et al.* Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man // *N. Engl. J. Med.* – 1994. – **331**, № 16. – P. 1056–1061.
20. *Roodi N., Bailey L.R., Kao W.Y. et al.* Estrogen receptor gene analysis in estrogen receptor-positive and receptor-negative primary breast cancer // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1995. – **87**, № 6. – P. 446–451.
21. *Garcia T., Lehrer S., Bloomer W.D. et al.* A variant estrogen receptor messenger ribonucleic acid is associated with reduced levels of estrogen binding in human mammary tumors // *Mol. Endocrinol.* – 1988. – **2**, № 1. – P. 785–791.
22. *Assikis V.J., Bilimoria M.M., Muenzner H.D. et al.* Mutations of the estrogen receptor in endometrial carcinoma: evidence of an association with high tumor grade // *Gynecol. Oncol.* – 1996. – **63**, № 2. – P. 192–199.
23. *McGuire W.L., Chamness G.C., Fuqua S.A.* Abnormal estrogen receptor in clinical breast cancer // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 1992. – **43**, № 1/3. – P. 243–247.
24. *Fuqua S.A., Wiltshcke C., Zhang Q.X. et al.* A hypersensitive estrogen receptor- α mutation in premalignant breast lesions // *Cancer Res.* – 2000. – **60**, № 15. – P. 4026–4029.
25. *Karnik P.S., Kulkarni S., Liu X.P. et al.* Estrogen receptor mutations in tamoxifen-resistant breast cancer // *Cancer Res.* – 1994. – **54**, № 2. – P. 349–353.
26. *Schmutzler R.K., Sanchez M., Lehrer S.* Incidence of an estrogen receptor polymorphism in breast cancer patients // *Breast Cancer Res.* – 1991. – **19**, № 2. – P. 111–117.
27. *Wilson K.B., Evans M., Abdou N.I.* Presence of a variant form of the estrogen receptor in peripheral blood mononuclear cells from normal individuals and lupus patients // *J. Reprod. Immunol.* – 1994. – **31**, № 3. – P. 199–208.
28. *Weis K.E., Ekena K., Thomas J.A. et al.* Constitutively active human estrogen receptors containing amino acid substitutions for tyrosine 537 in the receptor protein // *Mol. Endocrinol.* – 1996. – **10**, № 11. – P. 1388–1398.
29. *Kohler M.F., Berkholz A., Risinger J.I. et al.* Mutational analysis of the estrogen receptor gene in endometrial carcinoma // *Obstet. Gynecol.* – 1995. – **86**, № 6. – P. 33–37.
30. *Gennari L., Merlotti D., De Paola V. et al.* Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: A HuGE review // *Amer. J. Epidemiol.* – 2005. – **161**, № 4. – P. 307–320.
31. *Massart F., Reginster J.Y., Brandi M.L.* Genetics of menopause-associated diseases // *Maturitas.* – 2001. – **40**, № 2. – P. 103–116.
32. *Tempfer C.B., Schneeberger C., Huber J.C.* Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology // *Pharmacogenomics.* – 2004. – **5**, № 1. – P. 57–65.
33. *Tanaka Y., Sasaki M., Kaneuchi M. et al.* Polymorphisms of estrogen receptor alpha in prostate cancer // *Mol. Carcinog.* – 2003. – **37**, № 4. – P. 202–208.
34. *Herrington D.M., Howard T.D., Brosnihan K.B. et al.* Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein // *Circulation.* – 2002. – **105**, № 16. – P. 1879–1882.
35. *Kjaergaard A.D., Ellervik C., Tybjaerg-Hansen A. et al.* Estrogen receptor alpha polymorphism and risk of cardiovascular disease, cancer, and hip fracture: cross-sectional, cohort, and case-control studies and a meta-analysis // *Circulation.* – 2007. – **115**, № 7. – P. 861–871.
36. *Маниатис Т., Фрич Е.Е., Сэмбрук Ж.* Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 480 с.
37. *Li W.H.* Distribution of nucleotide differences between two randomly chosen cistrons in a finite population // *Genetics.* – 1977. – **85**, № 2. – P. 331–337.
38. *Nei M., Li W.H.* Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1979. – **76**, № 10. – P. 5269–5273.
39. *Excoffier L., Smouse P.* Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene genealogies within a species. Molecular variance parsimony // *Genetics.* – 1994. – **136**, № 1. – P. 343–359.
40. *Raymond M., Rousset F.* GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism // *J. Hered.* – 1995. – **86**. – P. 248–249.
41. *Excoffier L., Laval G., Schneider S.* Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // *Evol. Bioinform. Online.* – 2005. – **1**. – P. 47–50.
42. *Moore J.H.* Computational analysis of gene-gene interactions using multifactor dimensionality reduction // *Exp. Rev. Mol. Diagn.* – 2004. – **4**, № 6. – P. 795–803.
43. *Excoffier L., Slatkin M.* Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population // *Mol. Biol. Evol.* – 1995. – **12**, № 5. – P. 921–927.
44. *Hsieh Y.Y., Wang Y.K., Chang C.C., Lin C.S.* Estrogen receptor α -351 XbaI*G and -397 PvuII*C-related genotypes and alleles are associated with higher susceptibilities of endometriosis and lei-

- myoma // *Mol. Hum. Rep.* – 2007. – **13**, № 2. – P. 117–122.
45. *Albagha O.M., McGuigan F.E., Red D.M. et al.* Estrogen receptor α gene polymorphism and bone mineral density: haplotype analysis in women from the UK // *J. Bone Miner. Res.* – 2001. – **16**, № 1. – P. 128–134.
46. *Almeida S., Hutz M.H.* Estrogen receptor 1 gene polymorphisms and coronary artery disease in the Brazilian population // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2006. – **39**, № 4. – P. 447–454.
47. *Altmae S., Haller K., Peters M. et al.* Allelic estrogen receptor1(*ESR1*)gene variants predict the outcome of ovarian stimulation in *in vitro* fertilization // *Mol. Hum. Reprod.* – 2007. – **13**, № 8. – P. 521–526.
48. *Xing D., Nozell S., Chen Y.F. et al.* Estrogen and mechanisms of vascular protection // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2009. – **29**, № 3. – P. 289–295.
49. *Bretherick K.L., Hanna C.W., Currie L.M. et al.* Estrogen receptor α gene polymorphisms are associated with idiopathic premature ovarian failure // *Fertil. Steril.* – 2008. – **89**, № 2. – P. 318–324.
50. *Grandien K., Berkenstam A., Gustafsson J.A.* The estrogen receptor gene: promoter organization and expression // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 1997. – **29**, № 12. – P. 1343–1369.
51. *Chon C.S., Sullivan J.A., Kiefer T. et al.* Identification of an enhancer element in the estrogen receptor upstream region: implications for regulation of ER transcription in breast cancer // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1999. – **158**, № 1/2. – P. 25–36.

Надійшла 21.11.11