

Л.И. Колесникова, Т.А. Байрова, О.А. Первушина

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА ALA16VAL ГЕНА SOD2 В ВЫБОРКАХ МОНГОЛОИДОВ И ЕВРОПЕОИДОВ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)

В работе проведено исследование полиморфизма гена супероксиддисмутазы 2, играющего важную роль в антиоксидантной защите организма. Проведено генотипирование у представителей двух этнических групп, проживающих на территории Восточной Сибири – буряты (монголоиды) и русские (европеоиды). Частоты аллелей среди русских составили: Ala = 0,492; Val = 0,508, среди бурят: Ala = 0,343; Val = 0,657. Проведено сравнение частот встречаемости аллелей и генотипов между изучаемыми нами популяциями и группами из зарубежья (по результатам других исследований).

Ключевые слова: супероксиддисмутазы, полиморфизм, монголоиды, европеоиды

FREQUENCY OF POLYMORPHISM OF ALA16VAL GENE SOD2 IN SAMPLES OF MONGOLOID AND CAUCASOID POPULATION, LIVING IN EASTERN SIBERIA

L.I. Kolesnikova, T.A. Bairova, O.A. Pervushina

Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk

The article presents the study of superoxide dismutase 2 gene polymorphism that plays an important role in antioxidant protection of an organism. We performed genetic typing in representatives of two ethnic groups of Eastern Siberia – Buryats (Mongoloid) and Russians (Caucasoid). Alleles frequencies among Russians were Ala = 0,492; Val = 0,508; among Buryats Ala = 0,343; Val = 0,657. We compared these frequencies between the populations from Russia and from abroad (according to the results of other researches).

Key words: superoxide dismutase, polymorphism, Mongoloid, Caucasoid

ВВЕДЕНИЕ

Окислительный стресс – это нарушение в организме баланса между прооксидантами и компонентами системы антиоксидантной защиты [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9]. На структуру и функцию белков, задействованных в регуляции окислительного стресса, может оказывать значимое влияние генетический полиморфизм. Функциональные полиморфизмы, приводящие к замене одной аминокислоты на другую, могут приводить к изменению белковой молекулы. Замены в различных доменах белка в зависимости от локализации могут изменять активность фермента, сродство с субстратом и специфичность белка. Вариативность нуклеотидной последовательности генов антиоксидантной системы может оказывать влияние на уровень окислительного стресса организма [10].

Окислительный стресс, как полагают, играет важную роль в патогенезе значительного числа заболеваний. Антиоксидантный фермент – супероксиддисмутазы – является важным компонентом клеточной защиты от окислительного стресса.

В клетке супероксиддисмутазы 2 локализована в митохондриальном матриксе. Ген *SOD2*, кодирующий данный фермент, расположен на хромосоме 6q25.3 и состоит из 5 экзонов [11]. Установлено, что на активность супероксиддисмутазы 2 оказывает влияние полиморфизм *Ala16Val* (401T > C) гена *SOD2*. Полиморфизм *Ala16Val*, приводящий к замене аланина на валин, локализован в участке, отвечающем за связывание с митохондрией для транспортировки фермента в митохондриальный матрикс. В митохондриальном матриксе этот участок расщепляется, и су-

пероксиддисмутазы переходит в активную форму [12]. Отмечено, что фермент, содержащий в этой позиции Валин (*Val*), трансформируется в митохондриальный матрикс медленнее, чем белок с содержащий аланин (*Ala*). Соответственно, у носителей аллеля *Val* и генотипа *Val/Val* накапливается супероксид в матриксе, что приводит к большей выраженности окисленных повреждений мтДНК [14].

Целью работы стало изучить распространенность аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в популяционных выборках монголоидов и европеоидов, проживающих на территории Восточной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общую группу исследования составили 119 здоровых подростков из неродственных семей, возрастной диапазон – 14–17 лет (средний возраст – 15,24 ± 0,86 лет). При формировании выборки учитывалась этничность и проживание пробанда в конкретном географическом регионе в течение не менее трех поколений. Из них было 65 подростков-европеоидов (подростки русской национальности) и 54 подростка-монголоида (подростки бурятской национальности). Все подростки и их родители родились и проживали на территории Иркутской области. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Образцы крови забирали из локтевой вены в пробирки с антикоагулянтом (6% раствор этилен-

диаминтетрауксусной кислоты; ГОСТ 10652-73). Препараты ДНК получали с использованием наборов «ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась в автоматическом термоциклере «Терцик». Амплификацию проводили наборами реагентов для идентификации полиморфных маркеров SNP-экспресс-кардиогенетика (НПФ «Литех», Россия). Детекцию продуктов амплификации осуществляли в 3% агарозном геле, результаты электрофореза в геле визуализировались на фильтрате трансиллюминатора и документировались фотографированием.

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., США) (правообладатель лицензии – ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Сибирского отделения РАН). Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди – Вайнберга использовали критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Мы проанализировали частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма гена *SOD2* у 65 здоровых неродственных европеоидов и 54 индивидумов, относящихся к монголоидам (табл. 1).

Таблица 1
Распределение аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в выборках европеоидов и монголоидов

Генотип	n	Частота генотипа	Частота аллелей
Европеоиды			<i>Ala</i> : 0,492*
<i>Ala/Ala</i>	18	0,277*	<i>Val</i> : 0,508
<i>Ala/Val</i>	28	0,431	$\chi^2 = 1,24$
<i>Val/Val</i>	19	0,292	df = 1; $p > 0,05$
Монголоиды			<i>Ala</i> : 0,343*
<i>Ala/Ala</i>	4	0,074*	<i>Val</i> : 0,657
<i>Ala/Val</i>	29	0,537	$\chi^2 = 1,99$
<i>Val/Val</i>	21	0,389	df = 1; $p > 0,05$

Примечание: * – $p < 0,05$.

Согласно полученным результатам генотипирования полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в выборке европеоидов, частоты генотипов *Ala/Ala*, *Ala/Val* и *Val/Val* составляют 27,7 %, 43,1 % и 29,2 % соответственно. Частоты аллелей *Ala* – 0,492, *Val* – 0,508. В исследуемой группе монголоидов генотипы *Ala/Ala*, *Ala/Val* и *Val/Val* обнаружены в 7,4 %, 53,7 % и 38,9 % случаях, аллели *Ala* и *Val* встречаются с частотой 0,343 и 0,657 соответственно. В обеих выборках исследования наблюдаемая гетерозиготность не отличалась от ожидаемой, что соответствует равновесному распределению Харди – Вайнберга.

При сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* между европеоидами и монголоидами обнаружены статистически значимые различия. Так, аллель *Ala* в выборке европеоидов встречается на 15 % чаще, чем в группе монголоидов (0,492 против 0,343 соответственно; $\chi^2 = 4,82$; $p = 0,0282$). Таким образом, и генотип *Ala/Ala* у европеоидов встречается на 20 % чаще, чем у монголоидов (27,7 % против 7,4 % соответственно). Вместе с этим в выборке монголоидов распределение частот генотипов *Ala/Val* и *Val/Val* выше на 10 %, по сравнению с европеоидами ($\chi^2 = 6,76$; $p = 0,0093$).

Нами проведен анализ распространенности полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в популяциях разных народов мира. Как представлено в таблице 2, распространенности аллелей полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в изученных популяциях указывают на дифференциацию частотных характеристик аллеля *Ala*. Наибольшая частота встречаемости аллеля *Ala* зарегистрирована в популяции саамов, относящихся к финно-угорской ветви уральской языковой семьи, а наименьшая – у китайцев (монголоидная раса). Существуют также различия между частотами встречаемости аллелей у представителей европеоидной расы, представляющих три языковые группы балтийская (литовцы), финская (финны) и германская (шведы).

Таблица 2
Частоты аллелей полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в разных популяциях мира

Популяция	N	<i>Ala</i>	<i>Val</i>	Авторы
Саамы	100	0,615*:#	0,385	Sobkowiak A., Lianeri M., Wudarski M. et al.
Финны	100	0,475#	0,525	
Шведы	135	0,407	0,593	
Литовцы	103	0,563#	0,437	
Китайцы	38	0,303*	0,697	
Русские	65	0,492	0,508	Собственные данные
Буряты	54	0,343	0,657	

Примечание: * – $p < 0,05$ с русскими; # – $p < 0,05$ с бурятами.

При сопоставлении наших результатов с литературными данными выявлены статистически значимые различия по частотам встречаемости аллелей в популяции саамов с европеоидами (русскими) ($\chi^2 = 4,343$; $p = 0,037$) и монголоидами (бурятами) ($\chi^2 = 19,771$; $p = 0,000$).

По частоте встречаемости аллелей выборка европеоидов статистически значимо отличается от китайцев ($\chi^2 = 6,317$; $p = 0,012$). При этом индивидуумы, относящиеся к монголоидной расе, не имеют статистически значимых различий по частотам встречаемости аллелей (китайцы и буряты). Монголоиды (буряты) имеют статистически значимые различия по частоте встречаемости аллелей с европеоидными расами, такими, как финны ($\chi^2 = 4,494$; $p = 0,034$) и литовцы ($\chi^2 = 12,922$; $p = 0,000$).

Таким образом, на примере представленных данных прослеживается дифференциация частот полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в разных популяциях мира. Частота встречаемости аллеля *Val* преобладает

над частотой встречаемости аллеля *Ala* у монголоидов, у европеоидов распространенность аллелей *Ala* и *Val* изучаемого полиморфизма равна. В группе монголоидов генотип *Val/Val* встречается чаще, чем в группе европеоидов. Новыми являются данные о распространенности частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена *SOD2* в популяционных выборках европеоидов и монголоидов, проживающих на территории Восточной Сибири.

Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ «Ведущей научной школы» НШ-5646.2014.7

ЛИТЕРАТУРА REFERENCE

1. Андреев Ю.А., Кушнарева Ю.Е., Старков А.А. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях // Биохимия. – 2005. – Т. 70, Вып. 2. – С. 246–264.

Andreev Yu.A., Kushnareva Yu.E., Starkov A.A. Metabolism of reactive oxygen species in mitochondria // Biochemistry. – 2005. – Vol. 70, Iss. 2. – P. 246–264. (in Russian)

2. Воробьева Е.Н., Воробьев Р.И. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе болезней системы кровообращения // Бюлл. СО РАМН. – 2005. – № 4 (118). – С. 24–30.

Vorobyeva E.N., Vorobyev R.I. The role of free radical oxidation in the pathogenesis of cardiovascular diseases // Bull. SB RAMS. – 2005. – N 4 (118). – P. 24–30. (in Russian)

3. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Этногенетические маркеры антиоксидантной системы // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4. – С. 166–171.

Kolesnikova L.I., Bairova T.A., Pervushina O.A. Ethnogenetic markers of antioxidant system // Bul. ESSC SB RAMS. – 2013. – N 4. – P. 166–171. (in Russian)

4. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В. и др. Особенности процессов перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты в разных этнических группах Восточной Сибири // Экология человека. – 2010. – № 2. – С. 26–29.

Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Dolgikh V.V. et al. Features of lipid peroxidation – antioxidant protection in different ethnic groups of Eastern Siberia // Human Ecology. – 2010. – N 2. – P. 26–29. (in Russian)

5. Колесникова Л.И., Даренская М.И., Долгих В.В. и др. Про- и антиоксидантный статус у подростков

тофов и европеоидов // Известия Самарского НЦ РАМН. – 2010. – Т. 12, № 1-7. – С. 1687–1691.

Kolesnikova L.I., Darenskaya M.I., Dolgikh V.V. et al. Pro- and antioxidant status in Caucasoid and Tofalars adolescents // Proceedings of Samara Scientific Center RAS. – 2010. – Vol. 12, N 1-7. – P. 1687–1691. (in Russian)

6. Колесникова Л.И., Курашова Н.А. и др. Особенности антиоксидантной системы у подростков Восточной Сибири в зависимости от гендерной и этнической принадлежности // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 136–140.

Kolesnikova L.I., Kurashova N.A. et al. Features of antioxidant system in teenagers of Eastern Siberia depending on gender and ethnicity // Bul. ESSC SB RAMS. – 2013. – N 4 (92). – P. 136–140. (in Russian)

7. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. – М.: Слово, 2006. – 566 с.

Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. Oxidative stress. – M.: Slovo, 2006. – 566 p. (in Russian)

8. Burton G.J., Jauniaux E. Oxidative stress // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2011. – Vol. 25 (3). – P. 287–299.

9. Fariss M.W., Chan C.B., Patel M. et al. Role of mitochondria in toxic oxidative stress // Mol. Interv. – 2005. – Vol. 5 (2). – P. 94–111.

10. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view // Nutr. Rev. – 2012. – Vol. 70 (5). – P. 257–265.

11. Landis G.N., Lemieux I., Pascot A., Couillard C. Superoxide dismutase evolution and life span regulation // Mech. Ageing Dev. – 2005. – Vol. 126 (3). – P. 365–379.

12. Rosenblum J.S., Gilula N.B., Lerner R.A. On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1996. – Vol. 93, N 9. – P. 4471–4473.

13. Sobkowiak A., Lianeri M., Wudarski M. et al. Manganese superoxide dismutase Ala-9Val mitochondrial targeting sequence polymorphism in systemic lupus erythematosus in Poland // Clin. Rheumatol. – 2008. – Vol. 27. – P. 827–831.

14. Sutton A., Imbert A., Igoudjil A. et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability // Pharmacogenet. Genomics. – 2005. – Vol. 15, N 5. – P. 311–319.

Сведения об авторах

Колесникова Любовь Ильинична – член-корр. РАМН, профессор, директор ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел./факс: 8 (3952) 20-76-36, 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической генетики ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН

Первушина Оксана Александровна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН

Information about the authors

Kolesnikova Lyubov Ilyinichna – corresponding member of RAMS, professor, director of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS (Timiryazev str., 16, Irkutsk, 664003, tel./fax: +7 (3952) 20-76-36, +7 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Bairova Tatiana Ananjevna – M.D., head of the laboratory of clinical genetics of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS

Pervushina Oksana Aleksandrovna – junior research officer of the laboratory of clinical genetics of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS