

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 575.17(571.53)

Е.В. Беляева, О.А. Первушина

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ
У ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП

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

*В статье представлены результаты генотипирования образцов крови детей русской и бурятской национальности по I/D полиморфизму генов *GSTM1*, *GSTT1* методом полимеразной цепной реакции. Установлено отсутствие этнических особенностей по частоте встречаемости изученных генотипов генов *GSTM1*, *GSTT1*.*

Ключевые слова: полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз (*GSTM1*, *GSTT1*), этнос, дети

GLUTATHION-S-TRANSFERASE GENES POLYMORPHISM
IN THE DIFFERENT ETHNIC GROUPS OF CHILDREN

E.V. Belyaeva, O.A. Pervushina

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

*The results of genotyping of blood samples of russian and buryat children on I/D polymorphism of *GSTM1*, *GSTT1* genes by polymerase chain reaction are given. Absence of ethnic particularities in frequency deletion genotypes of *GSTM1*, *GSTT1* genes is shown in this article.*

Key words: glutathion-S-transferase genes (*GSTM1*, *GSTT1*), ethnic, children

ВВЕДЕНИЕ

С завершением в 2003 г. международного проекта «Геном человека», в ходе которого были секвенированы и расшифрованы гены человека, во всем мире возрос интерес к молекулярно-генетическим исследованиям. В настоящее время продолжается изучение особенностей полиморфизма генов человека и других живых организмов. Результаты этих исследований позволяют по-новому взглянуть на эволюцию человека, проблемы этногенеза, т.е. происхождения рас и этнических групп. Кроме этого, полиморфизмы некоторых генов изучают в связи с наследственной предрасположенностью человека к различным заболеваниям [1, 6].

Под полиморфизмом понимают наличие нескольких вариантов одного гена. В отличие от мутаций, полиморфные варианты гена не подвергаются действию генетического отбора и широко распространены в популяции, с частотой более 1 %.

Полиморфизм генов второй фазы детоксикации исследуется наряду с другими генами — кандидатами, ассоциированными с развитием заболеваний, в том числе в репродуктологии [3–5].

Детоксикация является важным метаболическим процессом, преобразующим свободные радикалы в нетоксичные продукты, играет роль в обеспечении резистентности клеток к повреждающему действию продуктов перекисного окисления липидов, алкилированию белков [2]. Основными участниками (или ферментами) данного процесса

являются цитохромы P-450, N-ацетилтрансферазы и глутатион-S-трансферазы.

Гены суперсемейства глутатион-S-трансфераз — *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* характеризуются значительным популяционным полиморфизмом. Полиморфные варианты этих генов определяют различную ферментативную активность соответствующих белковых продуктов. Наличие в организме человека функционально ослабленных вариантов повышает восприимчивость организма к вредным воздействиям и, как следствие, к увеличению риска развития некоторых заболеваний.

Ген *GSTT1* кодирует аминокислотную последовательность фермента тета-1 глутатион S-трансферазы, который содержится в эритроцитах и участвует в очистке организма от многих ксенобиотиков (в частности, хлорметанов и других промышленных канцерогенов). В случае делеции, т.е. отсутствия обширных участков гена *GSTT1*, соответствующий фермент не образуется, в результате чего способность организма избавляться от некоторых вредных соединений значительно снижается. Это приводит к повышению риска развития различных форм рака, а также ишемической болезни сердца. Частота встречаемости делеционного варианта гена *GSTT1* в популяциях человека составляет 16–25 %.

Ген *GSTM1* кодирует аминокислотную последовательность фермента тета-1 глутатион S-трансферазы, которая играет существенную роль в инактивации электрофильных органических

веществ. Наибольшая экспрессия гена *GSTM1* наблюдается в печени, почках и желудке. В случае делеции гена *GSTM1* фермент тета-1 глутатион S-трансфераза не образуется, в результате чего способность организма избавляться от некоторых вредных соединений значительно снижается. Частота встречаемости делеционного варианта гена *GSTM1* в популяции составляет 40–45 %.

Полиморфизм генов семейства глутатион-S-трансфераз широко изучается в связи с предрасположенностью носителей «нулевых генотипов» к различным заболеваниям, при этом не достаточно изучены этнические особенности полиморфизмов этих генов, что послужило целью нашего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом нашего исследования были относительно здоровые дети (I и II группы здоровья) русской и бурятской национальности, в возрасте 14–17 лет, проживающие в пос. Баяндай Иркутской области. Набор подростков осуществлялся методом случайной сплошной выборки — проведением профилактических осмотров в школах. Всего в группе исследования 118 детей, из двух этногрупп: 54 ребенка из коренной бурятской и 64 из пришло русской. Все дети были осмотрены врачами клиники НЦ ПЗСРЧ СО РАМН. Этническая принадлежность определялась с учетом фенотипических особенностей ребенка и данных генеалогического анамнеза. Сравнимые группы сопоставимы по полу и возрасту. В работе с группами детей и подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Материалом для исследования полиморфизма генов системы детоксикации ксенобиотиков *GSTM1* и *GSTT1* служила ДНК, выделенная из образцов венозной крови, смешанной с антикоагулянтом. Выделение ДНК проводили сорбентным методом, набором реагентов для выделения «ДНК-Сорб-В», производитель ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Россия). Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в автоматическом термочиклере «Терцик» исследована частота нулевых генотипов двух генов семейства глутатион-S-трансфераз *GSTM1* и *GSTT1*. Амплификацию осуществляли наборами реагентов для идентификации полиморфных маркеров *I/D* (инсерция/делеция), производитель «ГосНИИ генетика» (Россия). Детекцию продуктов амплификации осуществляли в 2%-ном агарозном геле, результаты электрофореза регистрировали и документировали с помощью системы компьютерного геледокументирования «GelDoc».

Математическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft, USA) и Biostat. При сравнении частоты встречаемости генотипов между группами детей использовали критерий χ^2 и точный критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено исследование *I/D* полиморфизма генов *GSTT1*, *GSTM1* у детей коренной и пришло этногрупп, проживающих в поселке Баяндай Иркутской области. В обеих сравниваемых группах были обнаружены носители функциональных и нулевых генотипов.

Функциональными считают следующие генотипы: гомозиготный по нормальному аллелю *II* генотип и гетерозиготный *ID* генотип, т.к. у носителей этих вариантов генотипов присутствует фермент тета-1 глутатион S-трансфераза. Графически функциональный генотип принято изображать знаком + (есть фермент). У гомозиготных носителей по делетированному аллелю (генотип *DD*) фермент не образуется, такой генотип называют нулевым и изображают -0- (нет фермента).

Сравнительный анализ частоты встречаемости нулевых генотипов по *I/D* полиморфизму генов *GSTT1*, *GSTM1* не выявил значимых отличий в сравниваемых группах детей, хотя среди русских детей носители нулевых генотипов встречаются несколько чаще (табл. 1). Так, по гену *GSTM1* среди детей коренной этногруппы частота носительства нулевых генотипов составляет 48,1 %, а среди русских детей носители нулевых генотипов наблюдаются в 1,3 раза чаще, с частотой 60,9 % ($\chi^2 = 1,454$, d.f. = 1, $p = 0,228$). По гену *GSTT1* среди детей коренной этногруппы частота носительства нулевых генотипов составляет 22,2 %, среди русских детей носители нулевых генотипов встречаются также в 1,3 раза чаще, с частотой 18,8 % ($\chi^2 = 0,056$, d.f. = 1, $p = 0,812$).

Таблица 1
Распределение функциональных и нулевых генотипов генов *GSTM1* и *GSTT1* у детей двух этнических групп

Группы Генотипы	Буряты		Русские	
	n = 54	%	n = 64	%
GSTM1				
+	28	51,9	25	39,1
0/0	26	48,1	39	60,9
GSTT1				
+	42	77,8	52	81,2
0/0	12	22,2	12	18,8

Мы провели также сравнительный частотный анализ сочетанных вариантов генотипов генов *GSTT1*, *GSTM1* в сравниваемых группах детей. Обнаружено, что среди русских детей носители нулевых генотипов одновременно по двум генам *GSTT1*, *GSTM1* встречаются почти в 2 раза чаще, по сравнению с группой детей коренной этногруппы и наблюдаются с частотой 17,6 % и 9,2 % соответственно. Тем не менее, полученные различия не являются статистически значимыми ($p = 0,387$) (табл. 2).

Таблица 2
Сочетанное распределение функциональных и нулевых генотипов генов *GSTM1* и *GSTT1* у детей разных этнических групп

Варианты сочетания генотипов	Буряты (n = 54)		Русские (n = 17)	
	n	%	n	%
M1 + / T1 +	21	38,9	4	23,5
M1 + / T1 0	7	13	2	11,8
M1 0 / T1 +	21	38,9	8	47,1
M1 0 / T1 0	5	9,2	3	17,6

Таким образом, сравнительный анализ частотного распределения генов *GSTT1*, *GSTM1* у детей русской и бурятской национальности, проживающих в одинаковых климатогеографических условиях показал, что у коренного — бурятского населения частота функциональных генотипов выше. Это позволяет высказать предположение о том, что в процессе эволюции у коренного населения лучше сформировались адаптационные механизмы, позволяющие приспособиться к действию чужеродных веществ, по сравнению с русским — пришлым населением, у которого чаще встречаются «нулевые» генотипы по генам суперсемейства глутатион-S-трансфераз.

Наши результаты о варьировании частоты «нулевых генотипов» в различных этнических группах подтверждают исследования других авторов. При изучении полиморфизма глутатион-S-трансферазы *GSTM1* в этнических группах, проживающих в городах Рио-де-Жанейро и Бразилиа, была показана тенденция к снижению частоты «нулевых генотипов» в популяциях чернокожих жителей по сравнению с белыми [7]. Так, среди «черных» жителей Рио-де-Жанейро частота нулевого генотипа составляет 42 %, а среди «белых» — 49 % ($p = 0,06$).

Несмотря на то, что носительство «нулевого генотипа» по полиморфизму гена *GSTM1* для отдельного индивидуума является «рисковым», т.к. отсутствие фермента, участвующего в процессе детоксикации, повышает риск развития некоторых заболеваний, его частота в различных популяциях человека достаточно высока. Это может быть связано с тем, что большинство заболеваний, ассоциированных с носительством «нулевых» генотипов

генов глутатион-S-трансфераз, проявляется в более позднем возрасте, когда делетированные аллели уже переданы потомкам. Поэтому «нулевые» аллели и генотипы не попадают под действие биологического отбора и продолжают сохраняться в популяциях человека, встречаясь с большей или меньшей частотой в различных этнических группах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования показали, что при сравнении детей русской и бурятской национальностей по частоте встречаемости «нулевых генотипов» генов семейства глутатион-S-трансфераз *GSTT1*, *GSTM1* не выявлены статистически значимые различия. Таким образом, I/D полиморфизм генов *GSTT1*, *GSTM1* не имеет этнических особенностей в изученных группах детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В.С. Баранова. — СПб.: Н-Л, 2009. — 527 с.
2. Геном человека и гены «предрасположенности»: Введение в предиктивную медицину / В.С. Баранов [и др.] // СПб.: Интермедика, 2000. — 263 с.
3. Изменчивость генов детоксикации при нарушениях репродуктивной функции у женщин / В.А. Шенин [и др.] // Здоровье. Медицинская экология. Наука. — 2009. — Т. 39—40, № 4—5. — С. 198—200.
4. Изменчивость генов системы детоксикации *GSTT1* и *GSTM1* у женщин с бесплодием, проживающих в Восточной Сибири / А.В. Лабыгина [и др.] // Амбулаторно-поликлиническая практика-платформа женского здоровья : тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции Москва, 2009 г. — С. 145—146.
5. Полиморфизм генов системы детоксикации у женщин с генитальным эндометриозом и бесплодием / В.А. Шенин [и др.] // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. — 2009. — № 2 (66). — С. 74.
6. Спицин В.А. Экологическая генетика человека. — М.: Наука, 2008. — 503 с.
7. Hatagima A., Nazare Klautau-Guimaraes M., Penalva da Silva F. Cabello Glutathione S-Transferase M1(*GSTM1*) polymorphism in two Brazilian populations // Genet. Mol. Biol. — 2000. — Vol. 23. — N 4.

Сведения об авторах

Беляева Елена Владимировна — м.н.с. лаборатории социально-значимых инфекций в репродуктологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, тел. (3952)292207, E-mail: belyeva_irk@mail.ru)

Первушина Оксана Александровна — м.н.с. лаборатории социально-значимых инфекций в репродуктологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, тел. (3952)292207, E-mail: oxana111088@mail.ru)