

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

GLUTATION-S-TRANSPHERASE 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: glutation-S-transpherasa 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. происхождение 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 пришедшей 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 термоциклере «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 пришедшей 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

Генотипы \ Группы	Буряты		Русские	
	n = 54	%	n = 64	%
<i>GSTM1</i>				
+	28	51,9	25	39,1
0/0	26	48,1	39	60,9
<i>GSTT1</i>				
+	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)