

О. К. Коляда, О. М. Вайсерман, І. М. Карабань

*Державна установа "Інститут геронтології
ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України", 04114 Київ*

АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ *CYP1A1* ТА *GSTM1* З РИЗИКОМ РОЗВИТКУ ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА В УКРАЇНСЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ

Проведено генотипування 176 пацієнтів зі хворобою Паркінсона (ХП) за генами біотрансформації ксенобіотиків — *GSTM1* та *CYP1A1*. Встановлено, що в Українській популяції наявна асоціація спорадичної форми ХП з дилатаційним поліморфізмом гена *GSTM1* та відсутня асоціація з поліморфізмом *A4889G* гена *CYP1A1*. Розраховано відношення шансів розвитку ХП для носіїв алеля гена *GSTM1*, що дає можливість використовувати генотипування за даним локусом для неврологічного консультування.

Ключові слова: хвороба Паркінсона, медична генетика, генотипування, гени біотрансформації ксенобіотиків.

У великій кількості епідеміологічних та популяційних досліджень встановлена безперечна спадкова компонента схильності до розвитку хвороби Паркінсона (ХП) [4]. При аналізі великих вибірок хворих доведено, що наявність сімейного анамнезу є одним із провідних чинників ризику розвитку ХП. Позитивний сімейний анамнез виявлено у 10–24 % хворих на ХП, що свідчить про те, що ризик виникнення хвороби серед родичів значно перевищує загальнопопуляційний [6]. Така сімейна форма прояву ХП особливо характерна для випадків раннього захворювання. Здійснюється активний пошук алельних варіантів генів, пов'язаних з розвитком ХП. Для цього у пацієнтів із ХП і в контрольних групах проводиться аналіз асоціацій з рядом генів-кандидатів, які, імовірно, можуть бути пов'язані з патогенезом захворювання.

ХП має нерівномірний характер розподілу в різних географічних регіонах, що може бути пов'язано як з труднощами діагностики захворювання в деяких країнах, так і зі впливом умов навколишнього середовища. Відомо, що кількість лише зареєстрованих хворих на ХП в Україні становить 56,6 на 100 000 населення [7]. У деяких дослідженнях спостерігали більш високий рівень захворюваності ХП в сільській місцевості,

що могло бути пов'язано як із застосуванням різних добрив (паракват, ротенон), так і з тривалим споживанням джерельної води, насиченої сполуками заліза [11]. Ці хімічні сполуки, як відомо, сприяють зменшенню активності процесів окисного фосфорилування, виникненню окисативного стресу і загибелі дофамінергічних нейронів. Марганець може викликати симптоми паркінсонізму при тривалому потраплянні в організм, наприклад у працівників марганцевого виробництва [1, 5]. Пропаркінсонічні властивості мають біологічно активні речовини деяких рослин [5]. Існує велика кількість епідеміологічних досліджень, проведених для з'ясування впливу чинників навколишнього середовища на розвиток захворювання. Показано, що ризик розвитку ХП зростає при тривалому контакті з пестицидами (гербицидами, інсектицидами) [14]. Так, американські дослідники виявили, що ризик розвитку ХП у тих, які застосовують у господарстві гербициди і пестициди, зростає на 70 %, а в осіб, що застосовують інсектициди для боротьби з домашніми комахами, — у 2 рази [2, 17]. Вірогідно, всі нейротоксини, окрім МФТП (1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин), призводять до розвитку не ХП а лише синдромів паркінсонізму, однак більшість нейротоксинів підвищують ризик реалізації генетичної схильності до ХП.

У багатьох країнах здійснюються дослідження, пов'язані з вивченням взаємодії чинників навколишнього середовища і генетичної схильності до виникнення ХП [14]. Чутливість до токсинів навколишнього середовища, яка обумовлена генетично і виникає у зв'язку зі зменшенням активності ферментів детоксикації, може відігравати значну роль у патогенезі ХП. Деякі дослідження показують, що при хронічному тривалому контакті з пестицидами ймовірність розвитку ХП особливо висока в осіб-носіїв несприятливих алелів генів, що відповідають за процеси детоксикації [19], зокрема у носіїв несприятливого алеля гена цитохромоксидази *CYP2B6* (тобто, у "поганих метаболізаторів" фосфор-органічних сполук) [13]. У той же час, асоціація ХП з алельними варіантами генів, що кодують білки системи детоксикації (*CYP2B6* та ін), яка в загальній групі пацієнтів зі ХП лише трохи перевищує поріг статистичної значущості, істотно підвищена і достовірна саме в групі осіб, що мали контакт із пестицидами [13]. Продукти генів сімейства глутатіон-*S*-трансфераз (*GST*), які, як відомо, каталізують взаємодію глутамату з атомами вуглецю, азоту, сірки і кисню в багатьох сполуках, беруть участь в другій фазі детоксикації мутагенів та інших токсичних ксенобіотиків. Цікаво, що добре відомий протективний ефект куріння у відношенні ризику ХП також опосередкований генетичними факторами: так, у носіїв *C*-алеля гена *MAO-B* паління і ризик ХП знаходяться у зворотній кореляції, тоді як при носійстві *A*-алеля цього гена куріння, навпаки, збільшує вірогідність розвитку захворювання [2, 10]. Для ХП є дані щодо модифікації ефекту куріння при поліморфізмі одного з генів глутатіон-*S*-трансферази [12].

Мета дослідження — визначити асоціацію поліморфізмів генів *CYP1A1* і *GSTM1*, які відіграють важливу роль у процесах детоксикації, з ризиком розвитку ХП в популяції України.

Обстежувані та методи. Обстежено 176 хворих на ХП (106 чоловіків та 90 жінок) віком 48–77 років із тривалістю захворювання від 1 до 16 років. Діагноз ХП встановлювали відповідно до міжнародних критеріїв, рухові функції оцінювали за допомогою шкал *Hoehn* і *Yahr* та частини III *UPDRS* в період "включення" протипаркінсонічних засобів, що використовувалися.

З дебютом хвороби у віці до 50 років було 48 (27 %) осіб, в 51–60 років — 73 (43 %), в 61–70 років — 46 (25 %) та старше 71 року — 9 (5 %) осіб. Переважно акінетичні форми діагностували у 45 (25 %) осіб, брадикінетичні — у 91 (52 %), з переважанням тремору — у 40 (23 %). Середній бал по III частині уніфікованої рейтингової шкали ХП *UPDRS* становив $39,2 \pm 10,2$. До контрольної групи входили 200 клінічно здорових людей, домірних з основною групою за віком та статтю.

Генотипування проводили за допомогою методу *PCR-RFLP* (тобто, комбінації методів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів). Виділення ДНК проводили із цільної крові за допомогою набору "ДНК-Сорб" (Росія). Ампліфікацію локусів, які підлягали вивченню, проводили з використанням праймерів *CYP1A1-F5-gaagtgtatcggtgagacca-3* *CYP1A1-R 5-gtagacagagctaggcctca-3*, *GSTM-F5-ctgcctacttgattgatggg-3*, *GSTM-R 5-ctggattgtagcagatcatgc-3* на ампліфікаторі "CorbettResearch PCR ThermalCycler" (Corbett LifeScience, Австралія). Реєстрацію отриманих ампліконів гена *CYP1A1* проводили після рестрикції рестриктазою *HindIII* у відповідності до рекомендацій виробника шляхом проведення електрофорезу в агарозному гелі.

При статистичній обробці відмінності у частотах генотипів серед пацієнтів зс ХП та у відповідних контрольних групах оцінювали за допомогою критерію χ^2 . Силу асоціації гена з ознакою оцінювали за допомогою показника відношення шансів (*odds ratio* — *OR*).

Результати та їх обговорення. Частота нормального генотипу (+/+) за геном *GSTM1* серед пацієнтів зі ХП становила 55,5 %, а серед здорових індивідуумів — 67,5 % (таблиця). Відмінності були статистично достовірними ($\chi^2 = 6,10$, $P < 0,01$). Частота "нульового" генотипу (0/0) серед хворих була значно вищою, ніж у контрольній групі (45,0 % та 32,5 %, відповідно). Відношення шансів для нульового генотипу становила 1,73 (*CI* 95 %: 1,14–2,63) та було статистично достовірним ($P = 0,01$). *AA*-алель гена *CYP1A1* у хворих зустрічався з частотою 84,7 %, алель *AG* — 12 % та алель *GG* — з частотою 3,3 %. Частота зустрічальності цих алелей в контролі становила 86 %, 12 % і 1,5 %, відповідно. Різниця в розподілі генотипів між цими двома групами за даним поліморфізмом не виявлено.

Для генів більшості ферментів у попередніх дослідженнях був виявлений суперечливий характер асоціації з ХП. Так, генетичні асоціації при ХП в одних популяціях не у всіх випадках можуть бути підтверджені при дослідженні інших популяцій, що може бути пов'язано з існуванням міжпопуляційних відмінностей алельних частот досліджуваних генів, а також відмінностей питомої ваги різноманітних генетичних і

середовищних факторів у патогенезі ХП [3]. При проведенні мета-аналізу, узагальнюючого дослідження асоціацій по 14 генам достовірне підвищення ризику розвитку захворювання було виявлено для мікросателітного повтору *GT* в гені *MAO-B*, фенотипу "повільного ацетиляторів" в гені 14 — ацетилтрансферази 2 (аллель, асоційований зі зниженою каталітичною здатністю ферменту до ацетилювання), делеції гена *GSTT1*, заміни аденіну на гуанін в 4336 положенні в гені мітохондріальної тРНК^{Glu} (*A4336G*) [2, 6].

Частота зустрічальності алелів генів *CYP1A1* та *GSTM1* в популяції України, абс. (%)

Ген	Поліморфізм	Алель	Контроль	ХП
<i>CYP1A1</i>	<i>A4889G</i>	<i>AA</i>	173 (86,5)	149 (84,7)
		<i>AG</i>	24 (12)	21 (12)
		<i>GG</i>	3 (1,5)	6 (3,3)
<i>GSTM1</i>	+/, 0/0	+/+	135 (67,5)	96 (55,5)
		0/0	65 (32,5)	80 (44,5)

Отримані нами результати генотипування за поліморфізмом *A4336G* в гені *CYP1A1* підтверджують дані інших дослідників [16]. Так, при вивченні асоціації ХП з поліморфізмом гена *CYP1A1* у популяціях Китаю також не було виявлено достовірних відмінностей [20], як і у дослідженнях, здійснених у британській популяції [16] та популяції Башкоркостану [2]. Тільки одна робота, проведена на японській популяції, підтверджує асоціацію ХП з геном *CYP1A1*, де ризик розвитку ХП у пацієнтів з генотипом *Val/Val* був у 6,54 разів вище, ніж у носіїв нормального генотипу *Pe/Pe* ($P < 0,001$). Таким чином, хоча результати досліджень асоціації поліморфізму гена *CYP1A1* з ХП є суперечливими і потребують продовження, за нашими даними, поліморфізм гена сімейства цитохромів *P450* (*CYP1A1*) не асоційований з розвитком ХП в українській популяції.

Порівнюючи отримані нами результати дослідження гена *GSTM1* з попередніми, ми визначили, що в більшості робіт асоціації "нульового" генотипу з розвитком ХП виявлено не було [15, 18], хоча у деяких дослідженнях було продемонстровано, що у пацієнтів з ненульовим генотипом вік маніфестації захворювання становив близько 68 років, тоді як пацієнти з "нульовим" генотипом мали більш ранній вік початку захворювання — 57 років [6]. Крім того, встановлено, що "нульовий" генотип гена *GSTM1* є генетичним маркером підвищеного ризику ($OR = 1,45$, $CI = 1,2-2,8$) у пацієнтів із Башкоркостану [2]. В нашому дослідженні ми отримали подібні результати, які свідчать про те, що носії "нульового" генотипу мають підвищений ризик розвитку ХП. Продукти сімейства генів глутатіон-*S*-трансфераз можуть бути залучені в патогенез ХП, оскільки вони є прямими антиоксидантами, а при ХП важливу роль відіграє ефективність усунення ферментами супероксидних радикалів, і ген *GSTM1*, як вважають, пов'язаний з метаболізмом дофаміну [2, 7].

Таким чином, за результатами нашого дослідження можна зробити попередній висновок, що для української популяції виявлена асоціація

спорадичної ХП з делеційним поліморфізмом гена *GSTM1* та відсутня асоціація цього захворювання з поліморфізмом *A4889G* гена *CYP1A1*.

Список використаної літератури

1. *Багыева Г. Х.* Клинико-генетический и биохимический анализ болезни Паркинсона: механизмы предрасположенности, экспериментальные модели, подходы к терапии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2009. — 23 с.
2. *Гилязова И. Р.* Молекулярно-генетическое изучение болезни Паркинсона в Башкортостане: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Уфа, 2004. — 24 с.
3. *Иллариошкин С. Н., Иванова-Смоленская И. А., Маркова Е. Д.* ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии. — М.: Миа, 2002. — 272 с.
4. *Коляда О. К., Вайсерман О. М., Карабань І. М.* Генетичні основи хвороби Паркінсона (огляд літератури та власних досліджень) // Журн. НАМН України. — 2013. — **19**, № 1. — С. 65–74.
5. *Крыжановский Г. Н., Карабань И. Н., Магаева С. В.* и др. Болезнь Паркинсона. — М.: Медицина, 2002. — 316 с.
6. *Пчелина С. Н., Якимовский А. Ф., Шварц Е. И.* Наследственные основы болезни Паркинсона // Медицинская генетика. — 2003. — **9**. — С. 411–425.
7. *Труфанов Е. А.* Эпидемиология болезни Паркинсона в Украине // Междунар. неврол. журн. — 2012. — **7**. — С. 56–59.
8. *Ahmadi A., Fredrikson M., Jerregard H.* et al. *GSTM1* and *mEPHX* polymorphisms in Parkinson's disease age of onset // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2000. — **269**. — P. 676–680.
9. *Baez S., Segura-Aguilar J., Widersten M.* Glutathione transferase catalyse the detoxication of oxidised metabolites (o-quinones) of catecholamines and may serve as an antioxidant system preventing degenerative cellular processes // *Biochem. J.* — 1997. — **324**. — P. 25–28.
10. *Checkoway H., Franklin G. M., Costa-Mallen P.* et al. A genetic polymorphism of MAO-B modifies the association of cigarette smoking and Parkinson's disease // *Neurology.* — 1998. — **50**. — P. 1458–1461.
11. *Cumming J. L.* Understanding Parkinson's disease // *JAMA.* — 1999. — **281**. — P. 376–378.
12. *Deng Y., Newman B., Dunne M. P.* et al. Case-only study of interactions between genetic polymorphisms of *GSTM1*, *PI*, *T1* and *Z1* and smoking in Parkinson's disease // *Neurosci. Lett.* — 2004. — **366**. — P. 326–331.
13. *Elbaz A., Levecque C., Clavel J.* et al. *CYP2D6* polymorphism, pesticide exposure, and Parkinson's disease // *Ann. Neurol.* — 2004. — **55**. — P. 430–434.
14. *Humble J. P., Cao T., Hassanein R. E. S.* et al. Risk factors for Parkinson's disease // *Neurology.* — 1993. — **43**. — P. 1693–1697.
15. *Menegon A., Board P. G., Blackburn A. C.* et al. Parkinson's disease, pesticides, and glutathione transferase polymorphisms // *Lancet.* — 1998. — **352**. — P. 1344–1346.
16. *Nicholii D. J., Bennett P., Hiller L.* et al. A study of five candidate genes in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders // *Neurology.* — 1999. — **53**. — P. 1415–1421.
17. *Stephenson J.* Exposure to home pesticides linked to Parkinson's disease // *JAMA.* — 2000. — **283**. — P. 3055–3056.
18. *Tison F., Coutrell C., Henry P.* et al. Glutathione-S-transferase (class mu) phenotype in Parkinson's disease // *Mov. Disord.* — 1994. — **9**. — P. 117–118.
19. *Veldman B., Wijn A., Knoers N.* et al. Genetic and environmental risk factors in Parkinson's disease // *Clin. Neurol. Neurosurg.* — 1998. — **100**. — P. 15–26.

20. Wang J., Liu Z., Chen B. Association between cytochrome P-450 enzyme polymorphisms and Parkinson's disease // Nat. Lib. Med. — 2000. — 80. — P. 585–587.

Надійшла 30.07.2013

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *GYP1A1*
И *GSTM1* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ
ПАРКИНСОНА В УКРАИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

О. К. Коляда, А. М. Вайсерман, И. Н. Карабань

Государственное учреждение "Институт геронтологии
им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины", 04114 Киев

Проведено генотипирование 176 пациентов с болезнью Паркинсона (БП) по генам биотрансформации ксенобиотиков — *GST* и *GYP1A1*. Установлено, что в Украинской популяции имеется ассоциация спорадической формы БП с дилатационным полиморфизмом гена *GSTM1* и отсутствует ассоциация с полиморфизмом *A4889G* гена *GYP1A1*. Рассчитано отношение шансов развития БП для носителей аллеля гена *GSTM1*, что дает возможность использовать генотипирование по данному локусу для неврологической консультации.

**ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS OF *GYP1A1* AND
GSTM1 GENES WITH THE RISK OF DEVELOPMENT OF
PARKINSON'S DISEASE IN UKRAINIAN POPULATION**

O. K. Koliada, A. M. Waiserman, I. N. Karaban

State Institution "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology
NAMS Ukraine", 04114 Kyiv

Genotyping of 176 patients with Parkinson's disease (PD) by genes of biotransformation of xenobiotics — *GST* and *GYP1A1* revealed the presence of association of sporadic form of PD with deletion polymorphism of *GSTM1* gene and absence of association with *A4889G* polymorphism of *GYP1A1* gene. Estimated was a chance of PD development for carriers of *GSTM1* gene allele, thus enabling to use genotyping by this locus for neurological consultation.

Відомості про авторів

Лабораторія епігенетики

О. М. Вайсерман — зав. лаб., д.м.н.

О. К. Коляда — м.н.с.

Відділ клінічної фізіології і патології екстрапірамідних захворювань нервової системи

И. М. Карабань — керівник відділу, д.м.н., професор