

8. Ликов В.Ф. Особенности развития иммунологических нарушений при неспецифических воспалительных заболеваниях легких и ишемической болезни сердца и их коррекция. Автореф. дисс.... д. м. наук. М. – 2005. – 38 с.

// М.: Медицина. – 1984. – 383 с.

10. Холодна Л.С. Имунологія: Підручник. / Л.С. Холодна // – К.: Вища школа. – 2007. – 271 с.

9. Федоров В. Д. Проктология. / В. Д. Федоров, Ю. В. Дульцев

Одержано 10.06.2013 року.

УДК 575.113+612.015.1+612.68

ЧАСТОТА ДЕЛЕЦИЙ ГЕНОВ GSTT1 ТА GSTM1 У ДОВГОЖИТЕЛІВ ПРИКАРПАТТЯ

Р.В. Козовий¹, С.В. Подольська², Н.Г. Горovenko²

¹ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

²Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика

ЧАСТОТА ДЕЛЕЦИЙ ГЕНОВ GSTT1 И GSTM1 В ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ ПРИКАРПАТТЯ

Р.В. Козовый¹, С.В. Подольская², Н.Г. Горovenko²

¹ГБУЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

²Національная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика

THE FREQUENCY OF GSTT1 AND GSTM1 GENES DELETIONS IN CENTENARIANS OF PRYKARPATTIA

R.V. Kozovyi¹, S.V. Podolska², N.H. Horovenko²

¹SHHEE “Ivano-Frankivsk National Medical University”

²P.L.Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education

Резюме. Проведено молекулярно-генетичне дослідження генів другої фази біотрансформації ксенобіотиків у 166 довгожителів Івано-Франківської області та 169 осіб контрольної групи. Встановлено, що частота функціонального алеля гена GSTT1 у всіх довгожителів Івано-Франківської області склала 74,85 %, що було меншим, порівняно з контролем в 1,09 рази. Відсоток функціонального гена GSTM1 серед популяції довгожителів Прикарпаття статистично не відрізнявся від такого у контролі (відповідно 53,29% та 52,63%). Показано перевагу носіїв делеційних варіантів генів GSTT1 та GSTM1 серед довголітніх області в Богородчанському районі та місті Івано-Франківську. Аналіз генотипів генів ферментів глутатіон-S-трансферази виявив, що серед довгожителів і осіб контрольної групи варіанти GSTT1 «+» / GSTM1 «+» зустрічалися частіше, порівняно з іншими.

Ключові слова: гени ферментів детоксикації ксенобіотиків, довгожителі.

Резюме. Проведено молекулярно-генетическое исследование генов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков в 166 долгожителей Ивано-Франковской области и 169 человек контрольной группы. Установлено, что частота функционального аллеля гена GSTT1 во всех долгожителей Ивано-Франковской области составила 74,85%, что было меньше по сравнению с контролем в 1,09 раза. Процент функционального гена GSTM1 среди популяции долгожителей Прикарпатья статистически не отличался от такового в контроле (соответственно 53,29% и 52,63%). Установлено преимущество носителей делеционных вариантов генов GSTT1 и GSTM1 среди долголетних области в Богородчанском районе и Ивано-Франковска. Анализ генотипов генов ферментов глутатион-S-трансферазы обнаружил, что среди долгожителей и лиц контрольной группы варианты GSTT1 «+» / GSTM1 «+» встречались чаще по сравнению с другими.

Ключевые слова: гены ферментов детоксикации ксенобиотиков, долгожители.

Summary. There has been conducted the molecular and genetic study of Phase II xenobiotic biotransformation genes in 166 centenarians of the Ivano-Frankivsk oblast and 169 persons from the control group. It has been stated that GSTT1 gene functional allele frequency in all the Ivano-Frankivsk oblast centenarians constituted 74.85% that was 1.09 times less than that of the control group. The percentage of GSTM1 functional gene among the Prykarpattia centenarians population did not statistically differ from that of the control group (53.29% and 52.63% respectively). There have been demonstrated the advantages of the bearers of GSTT1 and GSTM1 genes deletion variants among the centenarians from the region of Bohorodchany and the city of Ivano-Frankivsk. The analysis of gene genotypes of glutathione-S-transferase enzymes revealed that GSTT1 «+» / GSTM1 «+» variants appeared more frequently among centenarians and persons from the control group as compared to the others.

Keywords: genes of xenobiotics detoxification enzymes, centenarians.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Відомо, що розвиток різних мультифакторних станів залежить від індивідуальних спадкових особливостей, які визначають різну чутливість і реакцію людей до впливу одних й тих самих екзогенних чинників [1]. Провідне місце у відповіді організму конкретної людини на вплив довкілля належить системі детоксикації ксенобіотиків [2]. Процес біотрансформації, який включає ферментативне перетворення чужорідних включень або ксенобіотиків, поділяється на три фази

[3]. Перша фаза активації ксенобіотиків або метаболічної трансформації полягає в приєднанні до них модифікуючих функціональних груп (-OH, -SH, -NH₂). При цьому відбуваються реакції окиснення, відновлення та гідролізу, в результаті яких утворюються проміжні метаболіти. Цей процес каталізується мікросомальною ферментативною системою цитохрома P₄₅₀ (родина ферментів цитохромів) та деякими іншими ферментами класів оксидаз, редуктаз, гідролаз і дегідрогеназ. Відповідальними за біотрансформацію ксено-

біотиків першої фази вважаються гени класу CYP, а саме: CYP1A1, CYP1B1, CYP2A, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4. У процесі другої фази біотрансформації – нейтралізації, проміжні метаболіти з'єднуються з ендogenousними лігандами, які посилюють гідрофільну природу цих сполук, тим самим сприяють їхньому виведенню з організму. Тобто, друга фаза полягає в кон'югації високомолекулярних гідрофільних речовин з різними субстратами, в результаті чого вони перетворюються в гідрофільні кон'югати, здатні до експресії з жовчю [4]. Третя фаза полягає в евакуації або виведенні водорозчинних нетоксичних речовин з організму. Для цього існують специфічні переносники екзогенних сполук – Р-глікопротеїни, які сприяють екскреції ксенобіотиків у жовч або кров.

Велика кількість досліджень присвячена вивченню ферментів, які задіяні в другій фазі детоксикації ксенобіотиків, зокрема N-ацетилтрансферазам (NAT1, NAT2), ферментативним родинам уридиндифосфатглюкуронідаз (UDF), епоксидгідролаз і метилтрансфераз, (COMT) та глутатіон-S-трансферази (GST) [5]. Мультигенне сімейство GST детоксикує різні аліфатичні, ароматичні та гетероциклічні сполуки шляхом їх кон'югації з глутатіоном. Цитозольні GST поділяють на сім класів: α , μ , ω , π , σ , θ , ζ [6]. Знайдено велику кількість поліморфізму варіантів генів GST. У глутатіон-S-трансферази μ (GSTM1) і θ (GSTT1) відомі делеційні поліморфізми, які зумовлюють функціональну неактивність нульових алелей. Вважається, що носії таких делецій в гомозиготному стані мають схильність до деяких мультифакторних захворювань [7].

Цікавими є роботи щодо вікових особливостей поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази M1 і T1 у популяції людей Одеської та Київської областей [1,7]. З урахуванням збільшення віку населення на планеті зростає інтерес до вивчення первинних механізмів старіння організму і популяції та факторів, відповідальних за тривалість життя. Тому пріоритетними є роботи, які відображають певні закономірності між енд- і екзогенними факторами та тривалістю життя, молекулярно-генетичними механізмами формування цієї мультифакторної ознаки, що в свою чергу дає змогу прогнозувати та стимулювати активне довголіття.

Мета роботи – вивчення взаємозв'язку між частотою делецій генів GSTT1 і GSTM1 та тривалістю життя у популяції довгожителів Прикарпаття.

Матеріали і методи

Визначення частоти поліморфних варіантів делецій генів GSTT1 і GSTM1 у довгожителів проводили в молекулярно-генетичній лабораторії кафедри медичної генетики НМАПО. Матеріалом для дослідження слугували зразки ДНК 166 довгожителів. Поліморфізм генів глутатіон-S-трансфераз GSTT1 та GSTM1 визначали за допомогою методу мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції з детекцією в 1,5% агарозному гелі. Послідовності праймерів для виявлення делеційних варіантів генів GSTT1 та GSTM1 та умови ампліфікації застосовували відповідно до протоколу [8]. Отримані результати порівнювали з такими в контрольній групі, яка складалась із 169 осіб різного віку, які за клініко-генеалогічним аналізом не мали довгожителів у родовах.

Для статистичного аналізу отриманих даних використовували метод χ^2 та співвідношення шансів (Odds Ratio (OR)) [9,10].

Результати та їх обговорення

У результаті аналізу отриманих даних встановлено, що частота функціонального алеля гена GSTT1 у всіх довгожителів області склала 74,85 %, що було меншим, порівняно з контролем, в 1,09 рази (табл. 1). Делеційний варіант гена GSTT1 найчастіше зустрічався у довгожителів із Богородчанського району (50,0 %), що перевищувало загально-

Таблиця 1. Частота функціонування гена GSTT1 у довгожителів Прикарпаття

Довгожителі	GSTT1		χ^2	OR	P
	%	%			
	«-»	«+»			
По області	25,15	74,85	0,45	0,67 (0,29-1,68)	0,505
Богородчани	50	50	0,03	0,23(0,02-2,62)	0,856
Болехів	25	75	0	0,68 (0,12-3,26)	0,949
Верховинський р-н	28,57	71,43	0,01	0,56 (0,10-2,56)	0,918
Галицький р-н	16,67	83,33	0,09	1,13 (0,20-4,92)	0,769
Городенківський р-н	50	50	2,09	0,23 (0,05-1,10)	0,148
Долинський р-н	28,57	71,43	0,01	0,56 (0,10-2,85)	0,918
Івано-Франківськ	16,67	83,33	0,22	1,13 (0,12-6,28)	0,641
Калуський р-н	44,44	55,56	1,49	0,28 (0,07-1,28)	0,222
Коломийський р-н	14,29	85,71	0,01	1,35 (0,36-4,67)	0,911
Косівський р-н	24,32	75,68	0,12	0,70 (0,24-2,11)	0,732
Надвірнянський р-н	30	70	0,13	0,53 (0,11- 2,28)	0,715
Рогатинський р-н	20	80	0,28	0,90 (0,10-5,34)	0,599
Рожнятівський р-н	25	75	0	0,68 (0,12-3,26)	0,949
Снятинський р-н	18,18	81,82	0,18	1,02 (0,18-4,50)	0,672
Тисменицький р-н	25	75	0,12	0,68 (0,07-4,41)	0,726
Яремче	40	60	0,28	0,34 (0,05-2,23)	0,596
контроль	18,42	81,58			

Примітка: χ^2 , OR і P - порівняно з контролем

областний показник (25,15 %) та контрольні значення (18,42%). Варто зазначити, що у популяції інших країн носії делеційного варіанту гена GSTT1 зустрічаються у 20 % людей Кавказу, 34,5 % – жителів Ірану [7], 38,5 % – москвичів [6]. Відповідно, генотип GSTT1 0/0 не піддається експресії і кодованим ферментами не синтезуються та не беруть участь в процесі детоксикації ксенобіотиків. Порівняно з іншими варіан-

Таблиця 2. Частота функціонування гена GSTM1 у довгожителів Прикарпаття

Довгожителі	GSTM1		χ^2	OR	P
	%	%			
	«-»	«+»			
По області	46,71	53,29	0,01	1,03 (0,51-2,07)	0,915
Богородчани	50	50	0,43	0,9 (0,09-9,45)	0,513
Болехів	62,5	37,5	0,15	0,54 (0,13-2,52)	0,697
Верховинський р-н	71,43	28,57	0,58	0,36 (0,08-2,08)	0,448
Галицький р-н	33,33	66,67	0,27	1,8 (0,46-6,28)	0,603
Городенківський р-н	50	50	0,06	0,9 (0,21-3,85)	0,8
Долинський р-н	28,57	71,43	0,26	2,25 (0,39-10,05)	0,613
Івано-Франківськ	66,67	33,33	0,19	0,45(0,09-2,66)	0,66
Калуський р-н	55,56	44,44	0,01	0,72 (0,18-2,98)	0,943
Коломийський р-н	46,43	53,57	0,03	1,04 (0,4-2,71)	0,862
Косівський р-н	40,54	59,46	0,13	1,32 (0,53-3,23)	0,717
Надвірнянський р-н	50	50	0,04	0,9 (0,24-3,44)	0,836
Рогатинський р-н	20	80	0,46	3,6 (0,38-19,06)	0,497
Рожнятівський р-н	37,5	62,5	0,01	1,5 (0,32-6,23)	0,905
Снятинський р-н	45,45	54,55	0,05	1,08 (0,29-3,91)	0,817
Тисменицький р-н	50	50	0,18	0,9 (0,14-5,81)	0,67
Яремче	80	20	0,8	0,23 (0,04-2,12)	0,37
контроль	47,37	52,63			

Примітка: χ^2 , OR і P - порівняно з контролем

Таблиця 3. Частота варіантів генотипів генів GSTT1 та GSTM1 у довгожителів Івано-Франківської області

Досліджувані групи	Співвідношення, %			
	GSTT1 «+» / GSTM1 «-»	GSTT1 «-» / GSTM1 «+»	GSTT1 «+» / GSTM1 «+»	GSTT1 «-» / GSTM1 «-»
Довгожителі	35,72	14,29	47,83	10,71
Контроль	44,73	13,16	36,84	5,26

тами GSTs, клас GSTT1 не може з'єднуватися з глутатионом у матриксі, а також має деякий специфічний субстрат, до прикладу, дихлорметан і його похідні [7].

В результаті аналізу наявності функціонального гена GSTM1 серед популяції довгожителів Івано-Франківської області виявлено, що загальнообласний показник суттєво не відрізнявся від такого у контролі (відповідно 53,29% та 52,63%) (табл. 2). Отримані нами дані подібні до таких у популяціях людей центральної Росії – 53,5%. Найбільша кількість носіїв функціонально активного гена GSTM1 серед довгожителів діагностовано в Рогатинському (80,0%) та Долинському (71,43%) районах, найменша – в місті Івано-Франківську (33,33%). Частота нульового варіанту гена GSTM1 у Прикарпатських довгожителів, порівняно з такою у осіб 90 річного віку і старше, які проживають в Одеській області, була меншою в 1,43 рази [1].

Наступним етапом роботи було вивчення частоти співвідношень різних алелів генів глутатіон-S-трансфераз GSTT1 та GSTM1 (табл. 3). Кількість генотипів генів GSTT1 «+» / GSTM1 «-» у досліджуваній групі була меншою, порівняно із контролем в 1,25 рази. Однак частота генотипів GSTT1 «-» / GSTM1 «+» у тій же групі була дещо більшою від контрольних значень. Встановлено, що кількість варіантів GSTT1 «+» / GSTM1 «+» у довгожителів переважала контрольні показники. Поєднання двох делеційних варіантів генів детоксикації другої фази (GSTT1 «-» / GSTM1 «-») також була більшою в 2,04 рази.

Регуляція транскрипції генів глутатіон-S-трансферази підпорядкована складній системі ендо- і екзогенних факторів. Вони включають: стадію розвитку в онтогенезі, стать, вік, види тканин і велику кількість ксенобіотиків, таких як: поліциклічні ароматичні гідровуглеводи, фенолові антиоксиданти, вільні кислотні радикали, ізотіоціаніти, барбітурати, синтетичні глюкокортикостероїди та інші [11]. Тому нами було розглянуто характеристика частоти варіантів генотипів генів GSTT1 та GSTM1, залежно від статі (рис. 1)

Як видно з даних рисунка 1, найчастіше серед чоловіків-довгожителів зустрічався генотип GSTT1 «+» / GSTM1 «-» (44,44%), що відповідало контрольним показникам. Найменшою була частота такого генотипу у жінок досліджуваної групи (30,77%). Водночас частота генотипів GSTT1 «-» / GSTM1 «+» у жінок контрольної групи була найбільшою серед всіх обстежених (20,00%). Відсоток генотипу GSTT1 «+» / GSTM1 «+» серед жінок-довгожителів склав 41,35%, порівняно із 35,00% у контролі. Цікавим було те, що поєднання двох делеційних варіантів генів GSTT1 «-» / GSTM1 «-» не було діагностовано у жодної із жінок контрольної групи.

Отримані результати засвідчили перевагу гомозиготних варіантів генотипів генів GSTT1 «+» / GSTM1 «+» серед довгожителів і осіб контрольної групи.

Висновки

1. Частота функціонального алеля гена GSTT1 у всіх довгожителів Івано-Франківської області склала 74,85%, що було меншим порівняно з контролем, в 1,09 рази.

2. Виявлено, що відсоток функціонального гена GSTM1 серед популяції довгожителів Прикарпаття статистично не відрізнявся від такого у контролі (відповідно 53,29% та 52,63%).

3. Встановлено перевагу гомозиготності варіантів

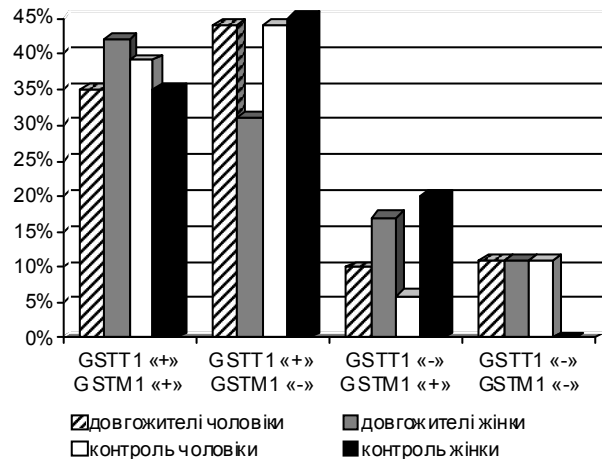


Рис. 1. Статеві особливості розподілу варіантів генотипів генів GSTT1 та GSTM1 у жителів Івано-Франківської області залежно від статі

генотипів генів GSTT1 «+» / GSTM1 «+» серед довгожителів і осіб контрольної групи.

Перспективи подальших досліджень

Відсутність значущих відмінностей комбінацій досліджуваних генів у довгожителів, порівняно із загальнопопуляційними показниками, потребує дослідження активності ферментів генів системи детоксикації.

Література

- Сметок, О. О. Вікові особливості поліморфізму генів глутатіон-S-трансфераз M1 і T1 у мешканців Одеської області / О.О. Сметок, М.М. Чеснокова, Ю.І. Бажора // Досягнення біології та медицини. - 2009. - N 2. - С. 65-67.
- Горovenko Н.Г. Роль поліморфізму генів GSTT1 і GSTM1 у прогнозуванні перебігу та формуванні схильності до ХОЗЛ / Н.Г. Горovenko, С.В. Подольська, Н.В. Чернюк // Український пульмонологічний журнал. - 2009. - № 4. - С.45-49.
- Баранов В. С. Геномика старения и предиктивная медицина / В.С. Баранов, О. С. Глотов, Е. В. Баранова // Успехи геронтологии. - 2010. - Т.23, №3. С.329-338.
- Polymorphic metabolic susceptibility genes and longevity: a study in octogenarians / B. Pesch, R. Dusing, S. Rabstein [et al.] // Toxicol Lett. 2004 - Vol. 151. - P: 283-290.
- Metabolic Gene Polymorphisms in Control Populations / S. Garte, L. Gaspari, A. Alexandrie [et al.] // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. - 2001. - Vol. 10. - P: 1239-1248.
- Частота поліморфізмів генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків CYP1A1, GSTT1, GSTM1 у жителів г. Москви / И. А. Григорьева, В. А. Никитина [и др.] // Медицинская генетика. - 2007. - Т. 6, № 3. - С. 38-43.
- Ебрахімі М. Роль генетичних маркерів спадкової схильності та факторів середовища у виникненні та перебігу бронхіальної астми: дис. ... кандидата мед. наук : 03.00.15 / Ебрахімі Мохаммад. - К., 2006. - 160 с.
- A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms / M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler [et al.] // Anal. Biochem. - 1996. - Vol. 236. - P. 184-186.
- Бабич П.Н. Применение современных статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение второе. Применение критерия хи-квадрат [Текст] / П.Н. Бабич, А.В. Губенко, С.Н. Лапач // Укр. мед. часопис. - 2003. - Т. 32, № 4. - С. 138-144.
- Бабич П.Н. Применение современных статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение третье. Отношение шансов: понятие, вычисление, интерпретация [Текст] / П.Н. Бабич, А.В. Губенко, С.Н. Лапач // Укр. мед. часопис. - 2005. - №2 (46). - С. 113-119.
- Hayes J.D. Glutathione Transferases / Hayes J.D., Flanagan J.U., Jewsey I.R. // Ann Rev Pharm Toxicol. - 2005. - Vol. 45. - P. 51-88.

Одержано 16.03.2013 року.