

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ГЛУТАТИОН S-ТРАНСФЕРАЗ У БОЛЬНЫХ ГЛАУКОМОЙ В КУРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Стабровская Н.В.^{1,2}, Иванов В.П.^{1,2}, Трубникова Е.В.^{1,2}, Брежнев А.Ю.³, Кохтенко Е.В.¹, Белоус А.С.¹, Нескородова Н.Ю.¹, Храмцов А.В.¹, Винников В.И.²

¹Курский государственный университет, научно-исследовательская лаборатория «Генетика», Курск, Россия (305000, Курск, ул. Радищева, 33)

²Курский государственный медицинский университет, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, г. Курск, Россия (305041, г. Курск, ул. К.Маркса, 3)

³Курский государственный медицинский университет, кафедра офтальмологии, г. Курск, Россия (305041, г. Курск, ул. К.Маркса, 3)

E-mail: star_n@inbox.ru

Известно, что ферменты метаболизма ксенобиотиков участвуют в метаболизме эндогенных веществ, следовательно, сбой в их работе может приводить к развитию значительного количества заболеваний. В представленном исследовании проведен анализ частот встречаемости полиморфных вариантов генов глутатионовых S-трансфераз – GSTT1 и GSTM1 у жителей Курской области. При этом установлено, что в рассматриваемых выборках (глаукома и контроль) количество генотипов GSTM1+ и GSTM1 del/del было практически равным. В тоже время количество генотипов GSTT1+ преобладало над количеством генотипов GSTT1 del/del. Таким образом, проведенный анализ частот встречаемости полиморфных вариантов генов глутатионовых S-трансфераз у жителей Курской области больных глаукомой не выявил значимых отличий по сравнению со здоровыми индивидами. Вероятно, существуют связи полиморфных вариантов генов GSTT1 и GSTM1 с некоторыми клиническими проявлениями рассматриваемой патологии.

Ключевые слова: глаукома, глутатион S-трансферазы, полиморфизм.

THE GENE'S POLYMORPHISM OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASES AT PATIENT WITH GLAUCOMA IN KURSK POPULATION

Stabrovskaya N.V.^{1,2}, Ivanov V.P.^{1,2}, Trubnikova E.V.^{1,2}, Brezhnev A.Y.³, Kohtenko E.V.¹, Belous A.S.¹, Neskorodova N.Y.¹, Khramscov A.V.¹, Vinnikov V.I.²

¹Kursk State University, scientific-research laboratory «Genetics», Kursk, Russia (305000, Kursk, Radischeva st. 33)

²Kursk State Medical University, department of biology, medical genetics and ecology, Kursk, Russia (305041, Kursk, K. Marks' st. 3)

³Kursk State Medical University, department of ophthalmology, Kursk, Russia (305041, Kursk, K. Marks' st. 3)

E-mail: star_n@inbox.ru

Known, that the enzymes of xenobiotic' metabolism take part in metabolism of endogenic matters. That is why if they work wrong there is development of any diseases a lot. In this investigation we research frequency of the gene's polymorphisms of glutathione s-transferases – GSTT1 and GSTM1 in Kursk population. Established, frequency of genotypes GSTM1+ and GSTM1 del/del is equal in concerned samplings (glaucoma and control). Also frequency of genotype GSTT1+ is more than frequency of genotype GSTT1 del/del. Those, realized analysis of frequency of the gene's polymorphisms of glutathione s-transferases in Kursk population with glaucoma doesn't show differences compared with healthy persons. Probably, there are contacts of the gene's polymorphisms GSTT1 and GSTM1 with some clinical evidences of this pathology.

Key words: glaucoma, glutathione s-transferases, polymorphism.

Введение

Среди офтальмопатологии имеются нозологические формы, которые развиваются незаметно, но в итоге приводят к полной потере зрения. Классический пример – глаукома.

Глаукома (от греч. – цвет морской воды, лазурный) – тяжелое заболевание органа зрения, получившее название от зеленоватой окраски, которую приобретает расширенный и неподвижный зрачок в стадии наивысшего развития болезненного процесса – острого

приступа глаукомы. Отсюда же происходит и второе название этого заболевания – «зеленая вода» или «зеленая катаракта» (от нем. «Grün Star»).

В настоящее время отсутствуют единые представления о причинах возникновения и механизмах развития этой болезни, встречаются определенные сложности даже в самой попытке определить понятие «глаукома».

Это хроническое заболевание глаза, при котором повышается внутриглазное давление. Если глазное давление вовремя не снизить до нормы, гибнет зрительный нерв, что приводит к необратимой слепоте. Глаукома – довольно распространенное заболевание: по статистике 14–15% всех слепых на земном шаре потеряли зрение именно по этой причине.

Известно, что ферменты метаболизма ксенобиотиков (ФМК) помимо деградации молекул экзогенного происхождения также активно участвуют в метаболизме эндогенных веществ и что сбой в их работе может приводить к развитию значительного количества заболеваний. Этой проблеме посвящены многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов. Вместе с тем гены ФМК только в последние годы стали объектом подобных исследований, и на сегодняшний день существует достаточно противоречивая информация об их роли в отношении развития патологических состояний. Так, при катаракте наблюдается ассоциация делеционного варианта частоты гена GSTM с тяжестью заболевания. В то же время наблюдается выше частота делеционного варианта гена GSTT при катаракте в сравнении с контролем. Также выявлена взаимосвязь с риском развития полинейропатии у курящих индивидов, имеющих делеционный вариант гена GSTT. Установлено, что при сахарном диабете увеличена частота делеционного варианта гена GSTT и уменьшена частота делеционного варианта гена GSTM. В связи с этим в данной работе проведен анализ частот встречаемости полиморфных вариантов генов глутатионовых S-трансфераз – GSTT1 (делеция) и GSTM1 (делеция) у жителей Курской области.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования была взята выборка больных глаукомой (210 индивидов). Контрольную группу составили индивиды, не родственные между собой и не имеющие по результатам клинического исследования глаукомы (232 индивида). Выделение тотальной ДНК осуществляли из цельной венозной крови стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. Типирование делеционных полиморфизмов генов GSTM1 и GSTT1 осуществлялось с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) согласно протоколу, описанному М. Arand с соавторами, на программируемом термоциклере MC2 ("ДНК-технология"). В качестве положительного контроля амплификации использовали фрагмент Р-глобинового гена. Продукты амплификации разделяли в 2%-

агарозном геле с этидиумбромидом и визуализировали в проходящем УФ-свете с применением компьютерной видеосъемки на приборе GDS-8000 (UVP, США). Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР гена представлено на рисунке 1.

Учитывая, что гетерозиготы и гомозиготы по нормальному аллели не дифференцируются с помощью использованного метода генотипирования, в проведенном исследовании носителей этих генотипов объединили в одну группу.

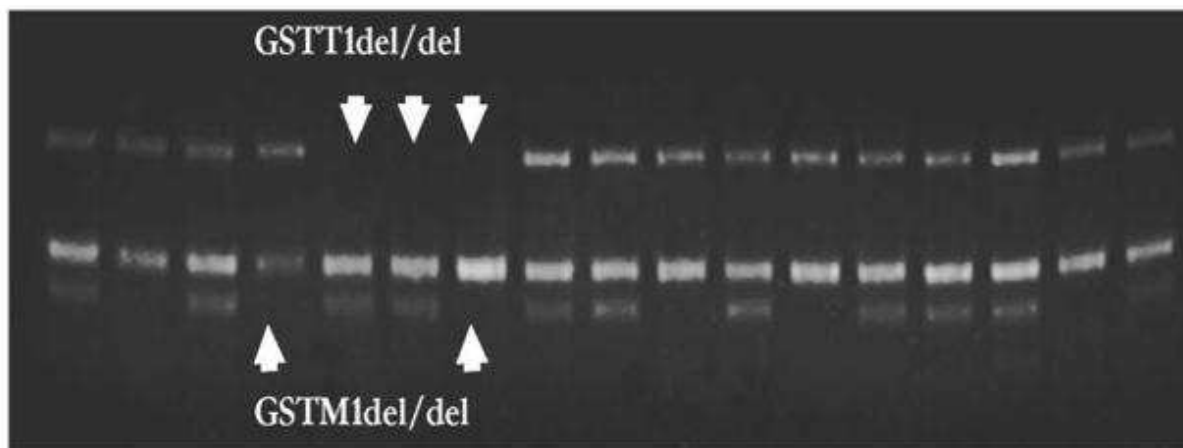


Рис. 1. Разделение амплифицированных фрагментов генов GSTT1 и GSTM1 на 2%-агарозном геле. Обозначения: Фрагмент гена GSTM1 амплифицировался размером 215 п.н. (верхние фрагменты), гена GSTT1 – размером 480 п.н. (нижний фрагмент). Фрагмент р-глобина – размером 350 п.н. использовался в качестве положительного контроля амплификации (средний фрагмент). Гомозиготы GSTT1 del/del обозначены тремя стрелками сверху. Гомозиготы GSTM1 del/del обозначены двумя стрелками снизу. (А.В. Полоников)

Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием программного пакета Statistica 8.0. Разницу в распределении частот генотипов и их сочетаний между группами рассчитывали с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса. Различия рассматривали как достоверные при уровне значимости $p < 0.05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение генотипов контрольной выборки показало, что в случае гена GSTM1 распределение генотипов было практически равным: генотипов с делеционным вариантом было 41,81%, а вариантов генотипов GSTM+ – 58,19%. Несколько иная картина наблюдалась в случае гена GSTT1. Здесь преобладали генотипы GSTT+ в отличие от делеционных. Похожая картина наблюдалась и в группе больных глаукомой. Сравнительный анализ частот генотипов между контрольной группой и группой больных глаукомой не выявил статистически значимых различий (таблица 1).

Распределение частот генотипов полиморфных вариантов генов в выборке больных с
глаукомой и контрольной группе

	Ген	Полиморфизм	Генотипы ¹	Частоты генотипов				χ^2	p ²
				n	Больные	n	Контроль		
1	GSTM1	del/+	del	210	0,448	232	0,418	0,28	0,60
			+		0,552		0,582		
2	GSTT1	del/+	del	210	0,305	232	0,349	0,79	0,37
			+		0,695		0,651		

1 Вариантные аллели (мутации) представлены в нижних ячейках соответствующих ДНК-маркёров.
2 уровни значимости р-частот аллелей между группами (*p<0,05)

Таким образом, проведенный анализ частот встречаемости полиморфных вариантов генов глутатионовых S-трансфераз у жителей Курской области больных глаукомой не выявил значимых отличий по сравнению со здоровыми индивидами. Тем не менее, вполне вероятно наличие связей полиморфных вариантов рассматриваемых генов с клиническими проявлениями представленной патологии.

Список литературы

1. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э. и др. Геном человека и гены предрасположенности (Введение в предиктивную медицину). – СПб.: Интермедика, 2000. – 272 с.
2. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 8–12.
3. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. – 1990. – Т. 110. – № 1(4). – С. 20–33.
4. Нестеров А.П. Глаукома. – М.: Медицина, 1995.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных (Применение пакета прикладных программ Statistica) // М.: Медиа-Сфера, 2003. – 312 с.
6. Arand M., Muhlbauer R., Hengstler J., Jager E., Fuchs J., Winkler L., Oesch F. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. *Anal. Bio-chem.*, 236: 184–186, 1996.
7. Bell D.A., Taylor J.A., Paulson D.F., Robertson C.N., Mohler J.L., Lucier G.W. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 85: 1159–1164, 1993.

8. [Cilenšek I](#), Mankoč S, [Petrovič MG](#), [Petrovič D](#). GSTT1 null genotype is a risk factor for diabetic retinopathy in Caucasians with type 2 diabetes, whereas GSTM1 null genotype might confer protection against retinopathy. // Dis Markers. 2012; 32(2):93–9.
9. [Lindh J](#), Söderkvist P, [Fredrikson M](#), [Hosseininia S](#), [Tondel M](#), [Persson B](#), [Vrethem M](#). Polymorphisms of GSTT1, GSTM1, and EPHX genotypes in patients with cryptogenic polyneuropathy: a case-control study. // Brain Behav. 2011 Nov; 1(2):135–41.
10. Sireesha R, Laxmi SG, Mamata M, Reddy PY, Goud PU, Rao PV, Reddy GB, Vishnupriya S, Padma T. Total activity of glutathione-S-transferase (GST) and polymorphisms of GSTM1 and GSTT1 genes conferring risk for the development of age related cataracts. // Exp Eye Res. 2012 Mar 16.

Рецензенты:

Ляпустин Виктор Николаевич, доктор биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий отделением криогенного хранения культур клеток и коллекционных штаммов вирусов ГУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова» РАМН, Московская обл.

Варгин Виктор Викторович, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник ГУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова» РАМН, Московская обл.