

## АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ С РЕПРОДУКТИВНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ У ЖЕНЩИН

Викторова Т.В.<sup>1</sup>, Исхакова Г.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО "Башкирский государственный медицинский университет" МЗ РФ, 450000, Россия, Уфа, ул. Ленина, 3, t\_vict@mail.ru

Данный обзор посвящён анализу современных представлений об этиопатогенезе и молекулярно-генетических основах репродуктивной патологии у женщин. Показана многофакторная природа женской инфертильности с влиянием на ее развитие как генетических, так и средовых факторов. Многие исследования выявили причастность окислительного стресса в патогенезе бесплодия при заболеваниях женской репродуктивной системы. На первых рубежах защиты от активных форм кислорода в клетках всех организмов стоят низкомолекулярные соединения. Особое внимание среди них привлекает трипептид глутатион, который содержится в клетках в миллимолярных концентрациях. Он принимает участие во многих ферментативных и неферментативных путях антиоксидантной защиты. Представлен обзор исследований ассоциаций между полиморфными вариантами генов глутатион-зависимых ферментов и репродуктивной патологией. Показана противоречивость данных литературы по этому вопросу.

Ключевые слова: полиморфизм генов, репродуктивная патология, женское бесплодие

## ASSOCIATION POLYMORPHISM OF GENES OF GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES WITH REPRODUCTIVE PATHOLOGY IN WOMEN

Viktorova T.V.<sup>1</sup>, Iskhakova G.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State medical university, 450000 Russia, Ufa, street Lenina, 3, t\_vict@mail.ru

This review covers analysis of modern ideas of etiopathogenesis and molecular genetic bases of reproductive pathology in women. A multifactorial background for female infertility has been shown, with genetic as well as environmental factors influencing its development. Many studies have implicated oxidative stress in the pathogenesis of infertility causing diseases of the female reproductive tract. On the first line of defense against reactive oxygen species in cells of all organisms are low molecular weight compounds. Particular attention is attracted, by including tripeptide glutathione, which is contained in cells in millimolar concentrations. He participates in many enzymatic and non-enzymatic antioxidant protection, paths. International scientific articles about correlations between polymorphism of genes of glutathione-dependent enzymes with reproductive pathology. The conflicting results are received.

Keywords: polymorphism of genes, reproductive pathology, female infertility

Формирование репродуктивного здоровья человека начинается задолго до его рождения и зависит от множества факторов риска как эндогенного, так и экзогенного характера [1, 11]. Не вызывает сомнения, что, наряду с внешнесредовыми факторами, в развитие нарушений репродукции вносит вклад наследственная предрасположенность и сложная система взаимодействия между генотипом и окружающей средой [10, 14].

Поступление в течение нескольких десятилетий в окружающую среду эндокринных деструкторов, с которыми организмы не контактировали в ходе длившейся миллионы лет эволюции и к которым просто не успели сформироваться молекулярные механизмы эффективного обеззараживания и выведения, радикально преобразило экологическую и биологическую ситуацию [11, 21]. Как оказалось, большинство антропогенных загрязнителей обладает гонадо- и эмбриотоксическим действием, связанным, в первую

очередь, с наличием у них свойств эндокринных деструкторов, т.е. соединений, вызывающих нарушения нейрогормональных отношений и эндокринной функции организма [11, 17]. К наиболее известным веществам этого класса относятся дихлордифенилэтаны, циклодиены, гексахлораны, диоксины, алкил- и нонилфенолы, феноловые красители, эфиры фталатов.

Согласно современным представлениям в основе многообразных механизмов токсического действия химических веществ лежит их способность нарушать фундаментальные биохимические процессы, составляющие основу жизнедеятельности: биосинтез белка, тканевое дыхание, окислительное фосфорилирование, метаболизм ксенобиотиков, перекисное окисление липидов [6, 34]. Все больше накапливается свидетельств о роли АФК (активные формы кислорода) в женской репродукции: созревании яйцеклетки, фолликулярной атрезии, функции желтого тела, лютеолизе [12, 18, 24]. АФК могут повреждать гамету и эмбрион через повреждения ДНК и РНК, пероксидацию липидных мембран, т.о., потенциально повышая риск прерывания беременности [28, 31].

Выявление молекулярно-генетических маркеров репродуктивной патологии является важной научно-практической задачей, решение которой позволит использовать их при оценке индивидуальной предрасположенности к репродуктивной патологии и своевременной профилактике, выборе тактики терапии [2, 10, 19, 24, 30, 36].

Глутатион ( $\gamma$ -L-глутамил-L-цистеинилглицин) – трипептид, присутствующий во всех клетках животных и человека, – поддерживает функциональную активность биологических мембран, участвует в механизмах передачи нервных импульсов, в синтезе белка и ДНК, в модулировании конформационного состояния белковых молекул и регуляции активности ферментов, в механизмах транспорта аминокислот, в синтезе простагландинов [5, 15]. Основным эффектом глутатиона реализуется посредством его участия в работе ферментов.

Глутатион-S-трансферазы (GSTs) – ферменты, метаболизирующие тысячи ксенобиотиков, в основном, путем конъюгации с восстановленным глутатионом [5].

Делеция гена GSTM1 возникла в результате неравного кроссинговера между двумя гомологичными последовательностями, фланкирующими ген GSTM1 [10]. В результате этой мутации формируется два типа аллелей. Функционально активный GSTM1\*1, продукт которого участвует в детоксикации алкилированных и полициклических ароматических углеводородов, и неактивный, или «нулевой», GSTM1\*0, при этом соответствующий белковый продукт не синтезируется. Наличие у индивидуума того или иного полиморфного варианта может определять значительные индивидуальные различия в метаболизме ксенобиотиков.

К настоящему времени накоплены сведения об ассоциации «нулевого» генотипа (гомозиготы по делеции GSTM1 0/0) с риском развития эндометриоза [16, 29]. В

проведенных исследованиях Sata F. с коллегами [27] установлено, что среди женщин с привычным невынашиванием беременности частота «нулевого» генотипа гена GSTM1 значительно превышает данные популяционного контроля и составляет 65,2% и 45,6%, соответственно. Причем среди пациенток с тремя и более выкидышами этот показатель достиг 70,6%. В работе Ковалевской Т.С. с соавторами количество пар с делецией в гене GSTM1 было достоверно больше по сравнению с контрольной группой, однако в группе пациентов с невынашиванием беременности у женщин обнаруженная тенденция к увеличению частоты нулевого аллеля этого гена оказалась недостоверной [3]. Кроме того, в работе Hong Y.C. [25] выявлены данные о повышении частоты нулевых генотипов гена GSTM1 у беременных женщин, подвергнутых оксидативному стрессу. В работе Беспаловой О.Н. с соавторами также не выявили достоверной ассоциации делеционного полиморфизма гена GSTM1 с привычным невынашиванием беременности [4]. Аналогичные результаты были получены в исследованиях зарубежных коллег [33, 35].

Глутатион-S-трансфераза theta (GSTT1) является важнейшим ферментом, участвующим в биотрансформации ксенобиотиков. В классе theta идентифицируется 2 гена – GSTT1 и GSTT2. Некоторыми исследованиями было показано, что функционально активные GSTT1 и GSTM1 участвуют в инактивации АФК [20].

Ген GSTT1 картирован на 22 хромосоме в области 22q11.23 [20]. Его полиморфизм обусловлен делецией, в результате которой формируется два типа аллелей: функционально активный GSTT1\*1 и неактивный, или «нулевой», GSTT1\*0. Частота нулевого генотипа в различных популяциях варьирует.

Считается, что мутация гена GSTT1 может быть фактором риска развития ряда заболеваний вследствие возникающей повышенной чувствительности к вредным факторам окружающей среды: эпителиальный рак яичников, привычное невынашивание беременности, гестозы [4, 10].

В проведенном нами исследовании рисковая значимость делеции гена GSTT1, установленная для общей выборки больных с репродуктивной патологией, сохранялась для каждой нозологической формы заболевания (первичное бесплодие, вторичное бесплодие, привычное невынашивание беременности) [7].

Ассоциация делеционного полиморфизма гена GSTT1 у пациенток с привычным невынашиванием беременности нашла подтверждение в исследовании Беспаловой О.Н. с соавторами [4]. Согласно результатам их работ, частота делеции гена GSTT1 в выборке женщин с привычным невынашиванием беременности составила 40% против 23,3% популяционного контроля.

Кроме того, в исследовании Магзумовой Н.М. с коллегами [9] выявлено достоверное снижение уровня активности глутатион-S-трансфераз у бесплодных женщин с гиперандрогенией по сравнению с контрольными данными. По другим данным, при невынашивании беременности активность глутатионтрансферазы в I триместре не отличается от активности фермента контрольной группы и остается низкой на протяжении всей беременности [13].

Наряду с этим, исследования других авторов не выявили существенных различий по частоте делеции гена GSTT1 между женщинами с привычным невынашиванием беременности и контролем. Так, в работе Ковалевской Т.С. с соавторами частота делеции составила 14,3% и 15,0% у больных и в контроле, соответственно [3]. Результаты работы Zusterzeel P.L. с соавторами также не выявили ассоциации делеционного полиморфизма гена GSTT1 с привычным невынашиванием беременности [33]. В исследовании других зарубежных коллег различия в частоте «нулевого» генотипа у женщин с патологией репродукции из Японии и контрольной группой также оказались статистически недостоверными [27]. Вероятно, такие различия объясняются тем, что частота делеции гена GSTT1 у индивидов из Восточной Азии существенно отличается от наблюдаемой для европейских популяций, и в цитируемом исследовании составляет 49,4% в контрольной группе и 47,0% у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Фермент GSTP1 относится к р1-классу глутатион S-трансфераз. Ген GSTP1 картирован на 11 хромосоме (11q13). Этот ген экспрессируется в органах респираторного тракта, селезенке, плаценте, мозге [10]. Транзиция аденина на гуанин в 313 положении 5-ого экзона гена (A313G) приводит к замене изолейцина на валин в 105 положении пептида (Pe105Val). В 6 экзоне гена GSTP1 описана редкая транзиция цитозина на тимин в 341 положении (C341T), сопровождающаяся заменой аланина на валин в 114 положении фермента (Ala114Val).

Нами было показано, что гаплотип \*D гена GSTP1 является генетическим маркером, ассоциированным с повышенным риском развития первичного бесплодия. Выявлена ассоциация генотипа \*GG полиморфного локуса A313G гена GSTP1 у женщин со вторичным бесплодием [7]. Имеются данные аналогичных исследований о достоверном повышении гомозиготных по мутации генотипов GG гена GSTP1 при привычном невынашивании беременности [33].

К ферментам, функции которых связаны с окислением восстановленной формы глутатиона относится глутатионпероксидаза (GPX). Глутатионпероксидаза (ГПО) представлена практически во всех тканях организма. Было показано, что содержание

глутатионпероксидазы в перитонеальной жидкости у женщин с необъяснимым бесплодием также было существенно снижено [26]. Описано четыре типа глутатионпероксидаз [22, 23].

Ген GPX1 локализован на хромосоме 3p21.3 и содержит 2 экзона. GPX1 экспрессируется во всех тканях, но наибольший уровень этого фермента найден в эритроцитах, почках и печени [22]. В гене GPX1 идентифицированы однонуклеотидные замены: 2Т/С, -592G/А и замена С593Т, приводящая к замене пролина на лейцин (Pro197Leu) [32]. Ген GPX2 картирован на хромосоме 14q24.1 и экспрессируется преимущественно в тканях желудочно-кишечного тракта и играет важную роль в защите млекопитающих от токсичности поступающих пероксидов липидов [22]. Внеклеточная глутатионпероксидаза (GPX3) в основном находится в плазме, но также экспрессируется в почках, легких, сердце и плаценте. Ген, кодирующий этот фермент, содержит пять экзонов и локализован на хромосоме 5q32-q33.1. Глутатионпероксидаза 4 (GPX4), представляет собой мономер, содержащий один атом селена. Этот фермент способен восстанавливать гидроперекиси фосфолипидов и холестерина в мембранах, препятствуя, тем самым, их вовлечению в окислительный цикл. Ген GPX4 картирован на хромосоме 19p13.3 и содержит семь экзонов.

Проведенный нами анализ полиморфного локуса С593Т (Pro197Leu) гена GPX1 не показал статистически достоверных различий между выборкой больных с репродуктивной патологией и контрольной группой [8]. Однако при исследовании активности глутатионзависимых ферментов в эритроцитах крови бесплодных женщин с гиперандрогенией выявлено резкое (в 3 раза) повышение активности ГПО по сравнению с контрольными цифрами, обусловленное, возможно, усилением образования супероксидных радикалов [9]. Также показано, что при самопроизвольном прерывании беременности содержание небелковых SH-групп в плаценте снижается, тогда как уровень активности глутатионпероксидазы достигает максимальной величины в первом триместре и превышает более чем в 1,5 раза значения уровня активности фермента в плаценте женщин с физиологическим течением беременности на протяжении гестации [13].

Таким образом, вышеизложенное свидетельствует об актуальности и целесообразности проведения медико-генетических исследований при нарушениях репродуктивной функции у женщин.

### Список литературы

1. Айламазян Э.К. Основные проблемы и прикладное значение экологической репродуктологии // Журнал акушерства и женских болезней. – 2005. - № 1. – С. 7-13.

2. Генетическая изменчивость в связи с влиянием антропогенной среды. Генетические аспекты профессиональных заболеваний / В.А. Спицын, С.В. Макаров, Г.В. Пай и др. // Медицинская генетика. – 2005. – Т. 4, № 10. – С. 446-453.
3. Генетические аспекты невынашивания беременности / Т.С. Ковалевская, Н.Н. Вассерман, С.М. Тверская, А.В. Поляков // Медицинская генетика. – 2003. – Т. 2, № 11. – С. 480-484.
4. Генетические факторы предрасположенности к привычному невынашиванию беременности ранних сроков / О.Н. Беспалова, О.Н. Аржанова, Т.Э. Иващенко и др. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2001. – Т. XLX, № 2. – С. 8-13.
5. Гуськов Е.П. и др. Генетика окислительного стресса. – Ростов н/Д: Изд-во СКНЦ ВШ ЮФУ, 2009. – 156 с.
6. Зиновьева В.Н., Спасов А.А. ДНК-протекторная активность природных и синтетических антиоксидантов // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50. – С. 231-242.
7. Исхакова Г.М., Викторова Т.В., Хамадянов У.Р. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков у женщин с репродуктивной патологией // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, №8. – С. 39-42.
8. Исхакова Г.М., Викторова Т.В., Галимов Ш.Н. Полиморфизмы генов, кодирующие ферменты антиоксидантной защиты, у женщин с репродуктивной патологией. Проблемы репродукции. – 2010. - №4. – С. 17-19.
9. Магзумова Н.М., Иноятова Ф.Х. Процессы глутатионовой детоксикации у женщин, страдающих бесплодием// Журнал акушерства и женских болезней. – 2002. - №3. – С. 98-100.
10. Наследственные болезни: национальное руководство/ под ред. Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 936 с.
11. Никитин А.И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека (ответственность перед будущими поколениями)- 2 изд., доп. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. – 240 с.
12. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений (обзор) / Колесникова Л.И., Гребенкина Л.А., Даренская М.А., Власов Б.Я. // Бюллетень Сибирского отделения РАМН. – 2012. – Т. 32, № 1. – С. 58-66.
13. Прокопенко В.М., Павлова Н.Г. Значение глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной защиты в функциональной активности плаценты человека // Акушерство и гинекология. – 2014. - №11. – С. 62-7.
14. Сивочалова О.В. Риск нарушений репродуктивного здоровья женщин при воздействии вредных факторов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2005. -№ 1. – С. 42-51.

15. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. - № 2 (84). – С. 178-180.
16. Шарафисламова Э.Ф., Викторова Т.В., Хуснутдинова Э.К. Полиморфизм генов глутатион S-трансфераз M1 и P1 у больных эндометриозом из Башкортостана // Медицинская генетика. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 136-140.
17. Яглова Н.В., Яглов В.В. Эндокринные дизрапторы - новое направление исследований в эндокринологии // Вестник РАМН. – 2012. - №3. – С. 56-61.
18. Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B. J. et al. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review *Reproductive Biology and Endocrinology* 2012, 31 p. 10:49 <http://www.rbej.com/content/10/1/49>.
19. Alpay Z., Saed G.M., Diamond M.P. Female infertility and free radicals: potential role in adhesions and endometriosis // *J Soc Gynecol Investig.* – 2006. – 13 (6). – P. 390-8.
20. Bolt H.M., Their R. Relevance of the deletion polymorphism of the glutathione-S-transferases GSTT1 and GSTM1 in pharmacology and toxicology// *Curr Drug Metab.* – 2006. - № 7. – P. 613-28.
21. Dolinoy D.C., Jirtle R. Environmental Epigenomics in Human Health and Disease. - *Environmental and Molecular Mutagenesis.* – 2008. – V. 49. – P. 4-8.
22. Forsberg L., U. de Faire, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 2001. – Vol. 389, № 1. – P. 84-93.
23. Foster C.B., Aswath K., Chanock S. et al. // *BMC Genetics.* – 2006. – 7:56.
24. Fujii J., Iuchi Y., Okada F. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system// *Reproductive biology and Endocrin.* м 2005. - 3:43.
25. Genetic susceptibility of term pregnant women to oxidative damage / Y.C. Hong, K.H. Lee, C.H. Yi et al. // *Toxicol Lett.* – 2002. – Vol. 129 (3). – P. 255-262.
26. Glutathione peroxidase concentration in the peritoneal fluid from infertile women / G. Polak, M. Koziol-Montewka, R. Tarkowski et al. // *Ginekol Pol.* – 2000. – 71(9). – P. 1017-21.
27. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphism and the risk of recurrent pregnancy loss / F. Sata, H. Yamada, T. Kondo et al. // *Mol Hum Reprod.* – 2003. – Vol. 9, № 3. – P. 165-169.
28. Iborra A., Palacio J.R., Martinez P. Oxidative stress and autoimmune response in the infertile woman // *Chem Immunol Allergy.* – 2005. – 88. – P. 150-62.
29. Hadfield R.M., Manek S., Weeks D.E. et al. // *Brit. J. Obstet. Gynecol.* – 2003. – Vol. 89, № 6. – P. 496-499.
30. Hickey M., Krikun G., Kodaman P. et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2006. – 91(9). – P.3633-8.

31. Menezo Y., Guerin P. Gamete and embryo protection against oxidative stress during medically assisted reproduction // Bull Acad Natl Med. – 2005. – 189 (4). – P. 715-26.
32. Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1 / L. Forsberg, U. de Faire, S.L. Marklund et al. // Blood Cells Mol. Dis. – 2000. – Vol. 26, № 5. – P. 423-426.
33. Polymorphisms in biotransformation enzymes and the risk for recurrent early pregnancy loss / P.L. Zusterzeel, Willianne L.D. Nelen, Hennie M.J. Roelofs et al. // Molecular Human Reproduction. – 2000. – Vol. 6, №5. – P. 474-478.
34. Rahman I., Biswas S.K., Kode A. Oxidant and antioxidant balance in the airway diseases // European Journal of Pharmacology. – 2006. – Vol. 533. – P. 222-239.
35. Suryanarayana V., Deenadayal M., Singh L. Association of CYP1A1 gene polymorphism with recurrent pregnancy loss in the South Indian population// Hum Reprod. – 2004. - № 11. – P. 2648-52.
36. The role of genetic polymorphisms in environmental health / S.N. Kelada, D.L. Eaton, S.S. Wang et al. // Environmental Health Perspectives. – 2003. – Vol. 111, № 81. – P. 1055-1064.

**Рецензенты:**

Корытина Г.Ф., д.б.н., ст. научный сотрудник лаборатории физиологической генетики человека ФГБУН ИБГ УНЦ РАН, г. Уфа;

Хамадянов У.Р., д.м.н., профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии № 1 ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, г. Уфа.