

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ СООТНОШЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И АНТРОПОГЕННОЙ СРЕДЫ

Е.Г. Каллаур

Полесский государственный университет, Пинск, Республика Беларусь, kallaure@rambler.ru

Введение. Воздействие различных антропогенных факторов, в том числе промышленных выбросов, транспортных выхлопных газов, пассивного курения; химическая опасность в быту, неоправданное применение некоторых лекарственных средств, оказывают токсическое, сенсibiliзирующее, раздражающее воздействие на организм, в том числе, на органы, непосредственно контактирующие с внешней средой, в первую очередь, респираторный тракт, что, безусловно, предполагает к частым острым респираторным заболеваниям (ОРЗ) и мультифакториальной пато-

логии [1,3,6]. Большинство заболеваний, по своей природе, являются мультифакториальными, так как в механизмы их возникновения и развития вовлекаются много разных функционально взаимосвязанных генов, включающих, так называемые, гены-модификаторы, эффект которых во многом определяется средовыми факторами [4,7,10]. Повреждение органов дыхания заключается в непосредственном воздействии на них веществ прооксидантов, находящихся в загрязненном воздухе, а также эндогенных метаболитов, образующихся при свободнорадикальном окислении в результате дисбаланса в системе оксиданты – антиоксиданты, вследствие нарушения равновесия между системой антиоксидантной защиты организма, системой ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК), что, при воздействии определенных триггеров, запускает механизм повреждения верхних и нижних отделов дыхательной системы, с развитием хронической патологии органов дыхания [3,6,9]. Риск частых ОРЗ и мультифакториальных заболеваний у жителей современных городов повышается под влиянием эпигенетических факторов, в частности, в случае снижения активности генов ферментов фолатного цикла [11].

Современное состояние вопроса. Спорт высших достижений является средой, способствующей реализации мультифакториальных заболеваний (МФЗ) у лиц, имеющих генетическую конституцию, чувствительную к воздействию патогенных факторов окружающей среды. Отбор детей в спорт должен осуществляться не только с учетом возможностей спортивного успеха, но и с учетом возможного риска мультифакториальной патологии при высокой физической активности. Доказано, что интенсификация тренировочных и соревновательных нагрузок вызывает активацию свободнорадикального окисления, которое сопровождается нарушениями процессов тканевого дыхания, быстрым развитием утомления и снижением переносимости состояний гипоксии, возникающих в процессе выполнения тренировочных нагрузок [2,9,10].

Частота информативных аллелей и генотипов, значимых при спортивном отборе, в различных популяциях отличается, поэтому исследования индивидуальной чувствительности организма, должны проводиться на наиболее уязвимой к негативным воздействиям окружающей среды, популяции часто болеющих детей (ЧБД). Дети, относящиеся к группе диспансерного наблюдения, как часто болеющие, составляют значительную прослойку детской популяции, особенно в возрасте от 6 месяцев до 6 лет, а также в подростковом возрасте [7]. В результате экогенетических исследований показан повышенный риск развития МФЗ, на фоне частых ОРЗ, у часто болеющих детей, как следствие реализации генетических полиморфизмов, отвечающих за детоксикацию ксенобиотиков и защиту клетки от повреждающего воздействия ксенобиотиков и их метаболитов [3,6,7]. Однако, исследований, свидетельствующих о вкладе полиморфизма генов «внешней среды» и защиты клетки, в реализацию МФЗ у спортсменов высокой квалификации, при значительных физических нагрузках, значимых для отбора детей в спорт высших достижений, еще не достаточно [2].

Биотрансформация ксенобиотиков осуществляется при участии ферментативных систем, локализованных в митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме, пероксисомах клеток всех органов и систем организма в два этапа. На первом этапе в результате комплекса окислительных реакций при участии цитохрома Р-450 из липофильных ксенобиотиков образуются промежуточные метаболиты, иногда с более выраженными токсичными свойствами, чем первичные продукты. На втором этапе, в результате реакций конъюгации образованных в первой фазе метаболитов, или экзогенных водорастворимых метаболитов, с глутатионом, сульфатом или глюкуронидом, образуются нетоксические гидрофильные соединения, которые в дальнейшем выводятся в желчь или кровь. Элиминация ксенобиотиков осуществляется при участии Р – гликопротеина [8].

При избытке ксенобиотиков или недостаточной эффективности ферментативных превращений чужеродных соединений происходит напряжение процесса митохондриального окисления, с образованием избыточного количества оксидантов или активных форм кислорода (АФК). АФК образуются в митохондриях (супероксид-анион радикал, перекись водорода), в пероксисомах (перекись водорода), в микросомах (супероксид-анион радикал), в фагоцитах (пероксинитрит). АФК выполняют ряд физиологических функций в клетке. В пероксисомах происходит окисление ненасыщенных жирных кислот. Продукты окисления ненасыщенных жирных кислот являются медиаторами функций иммунокомпетентных клеток. В микросомах печени активность цитохрома Р450 необходима для детоксикации ксенобиотиков. Продукция пероксинитрита фагоцитами, обозначаемая как «окислительный взрыв», направлена на разрушение чужеродных микроорганизмов. АФК участвуют в регуляции клеточных сигналов, где они играют роль вторичных мессенджеров. Поддержание физиологически допустимых концентраций АФК обеспечивается благодаря системе антиоксидантной защиты (АОЗ) [7,8,9]. При превышении максимума концентрации в клетке АФК

индуцируют ответ со стороны АОЗ. В нормальных условиях у человека содержание антиоксидантов не зависит от возраста, пола, массы тела. В то же время при различных патологических состояниях максимум концентрации АФК, допустимой в клетке, активность антиоксидантной системы защиты клетки может изменяться в различных направлениях [9].

Нарушение механизмов антиоксидантной защиты характеризуется развитием свободнорадикальных повреждений различных компонентов клетки, составляющих синдром пероксидации и включающий повреждение биомембран; инактивацию или трансформацию ферментов, подавление деления клеток, накопление в клетке инертных продуктов полимеризации, с развитием окислительного стресса (ОС) [9,10]. Рецидивирующий синдром пероксидации является основой патогенеза мультифакториальных заболеваний.

В процессе эволюции в клетках для защиты от АФК выработались специализированные системы: ферментативная антиоксидантная система (АОС) и неферментативная АОС. Ферментативная АОС включает: супероксиддисмутазу (SOD), катализирующую реакции дисмутации супероксиданиона в перекись водорода; каталазу (CAT), разлагающую перекись водорода; глутатионпероксидазы (GPO), инактивирующие перекись водорода; систему глутатион-S- трансфераз (GST), удаляющих органические перекиси и осуществляющие биотрансформацию ксенобиотиков; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (G6FD), глутатионредуктазу (GR).

Антиоксидантная система эффективно защищает клетки от оксидативного стресса, и обычно только при ее недостаточности или истощении развиваются значительные поражения клеточных компартментов. Функционирование ферментативного звена антиоксидантной системы зависит от сбалансированной активности ферментов. Подавление активности одного из ферментов антиоксидантной системы может привести к избыточному накоплению АФК и деструкции клеток. В целомном макроорганизме находятся в динамическом равновесии системы генерации свободных радикалов, в частности, АФК, и антиоксидантной защиты.

Способность адаптироваться к воздействию фактору без нарушения гомеостаза основных систем организма и срыва адаптационных механизмов может проявиться только при достаточно высоких адаптационных возможностях организма, при большом запасе функциональных резервов. Как показано многими исследованиями, физиологическая адаптация, как правило, протекает по антигипоксическому механизму [9,10].

Риск формирования различных заболеваний на фоне несовершенных адаптационных возможностей детского организма, снижения резистентности и сопротивляемости, связан со сдвигом ряда метаболических процессов. Интенсификация тренировочных и соревновательных нагрузок вызывает активацию свободно радикального окисления, которое сопровождается нарушениями процессов тканевого дыхания, быстрым развитием утомления и снижением переносимости состояний гипоксии, возникающих в процессе выполнения тренировочных нагрузок [10].

Индивидуальную склонность к различной патологии связывают с генетической вариабельностью ферментов, ответственных за превращение ксенобиотиков [8].

Гены ферментов антиоксидантной системы вовлечены в формирование предрасположенности к патогенетически различным мультифакториальным заболеваниям, а также донозологическим состояниям, а генетическая основа их развития характеризуется значительной аллельной и локусной гетерогенностью, проявляющейся на фенотипическом уровне выраженным варьирующим возрастом их манифеста: развитие донозологических состояний, предшествует манифестации МФЗ в сроки, зависящие от стресс - индуцирующих факторов [9]. При прооксидантном действии среды, генотипы ферментов антиоксидантной системы потенцируют их негативное влияние на органы и ткани, посредством усиления процессов свободнорадикального окисления, увеличивая риск развития болезней, тогда как, в условиях антиоксидантного действия среды, генотипы ферментов антиоксидантной системы могут не проявляться патологическими изменениями фенотипа, или даже обладать защитными свойствами в отношении риска развития той или иной патологии. Ген ферментов фолатного цикла (MTHFR), повышает активность генов супрессоров прооксидантного действия [11].

Материалы и методы исследования. НИЛ лонгитудинальных исследований в 2009-2010 году проводились ДНК- исследования популяции часто болеющих детей и спортсменов различной квалификации, с определением носительства генетических полиморфизмов ферментов, ответственных за биотрансформацию ксенобиотиков, антиоксидантную защиту и фолатный цикл. Исследовали ядерную ДНК, с использованием методов ПЦР, ПДРФ. В качестве биологического материала использовали соскоб эпителия слизистой щеки. Все испытуемые подписали информированное согласие на проведение исследования. В качестве контрольной группы была взята группа людей, по

возрасту и полу соответствующая группам испытуемых; не занимающихся спортом, отобранных путем случайного отбора. Всего протестировано по локусам +0 генов *GSTT1*, *GSTM1*; *Pro198Leu* гена *GPX1*; *C677T* гена *MTHFR* 1307 человек, в том числе 286 лиц контрольной группы; 809 лиц основной группы, в том числе: 199 детей группы часто болеющих, состоящих в данное время на диспансерном учете в связи с частыми ОРЗ, 274 ребенка, снятых с учета группы ЧБД в связи с выздоровлением, 336 детей, ранее часто болеющих, в настоящее время наблюдаемых в связи с хронической патологией, 212 спортсменов высокой квалификации, в том числе имеющих хроническую патологию.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты генотипирования полиморфизмов генов ФБК (*GSTT1* и *GSTM1*) следующие: по гену *GSTT1* в общей популяции испытуемых, частота аллеля + составила 62,5%, частота аллеля 0 составила 37,5%, генотип ++ составил 34,4%, генотип +0 составил 38,3%, генотип 00 составил 27,3%, в том числе у детей группы ЧБД, N=809, частота аллеля + составила 16,1%, частота аллеля 0 составила 83,9%, генотип ++ составил 10,9%, генотип +0 составил 12,1%, генотип 00 составил 77,0%, в общей выборке спортсменов, N=212, частота аллеля + составила 69,1%, частота аллеля 0 составила 30,9%, генотип ++ составил 56,1%, генотип +0 составил 26,0%, генотип 00 составил 17,9%;

По гену *GSTM1* в общей популяции испытуемых, N=1307, частота аллеля + составила 56,5%, частота аллеля 0 составила 43,5%, генотип ++ составил 28,4%, генотип +0 составил 39,6%, генотип 00 составил 32,0%, в том числе у детей группы ЧБД, N=809, частота аллеля + составила 69,8%, частота аллеля 0 составила 30,2%, генотип ++ составил 52,7%, генотип +0 составил 33,7%, генотип 00 составил 13,5%, в общей выборке спортсменов, N=212, частота аллеля + составила 57,5%, частота аллеля 0 составила 42,5%, генотип ++ составил 36,8%, генотип +0 составил 41,5%, генотип 00 составил 21,7%.

Доля индивидуумов, имеющих нулевые аллели по двум генам *GSTT1* и *GSTM1* в общей популяции испытуемых, N=1307, составила 16,2%, в том числе у детей группы ЧБД, N=809, частота нулевых аллелей по двум генам *GSTT1* и *GSTM1* составила 20,2%, в общей выборке спортсменов, N=212, частота нулевых аллелей по двум генам *GSTT1* и *GSTM1* составила 15,8%.

При сравнении результатов проведенных исследований по частоте распределения аллелей генов *GSTT1* и *GSTM1* в популяции с аналогичными литературными данными, следует констатировать соответствие частоты гомозигот по делеции гена с таковыми в европеоидных популяциях по каждому из генов, частота нулевых генотипов по двум генам *GSTT1* и *GSTM1* в популяции часто болеющих детей превысила средне популяционную частоту распределения нулевых генотипов по генам ФБК (*GSTT1* и *GSTM1*).

Результаты генотипирования полиморфизма *Pro198Leu* гена *GPX1* показали, что частота гомозигот по мутантным и функциональным аллелям и локусам в общей популяционной выборке соответствует данным, показанным в европеоидных популяциях. В общей популяции испытуемых, N=1307, частота аллеля *198Pro* составила 62,5%, частота аллеля *198Leu* составила 37,5%, генотип *198ProPro* составил 50,6%, генотип *198ProLeu* составил 38,7%, генотип *198LeuLeu* составил 10,7%; в том числе у детей группы ЧБД, N=809, частота аллеля *198Pro* составила 63,8%, частота аллеля *198Leu* составила 36,2%, генотип *198ProPro* составил 44,8%, генотип *198ProLeu* составил 33,7%, генотип *198LeuLeu* составил 17,2%; в общей выборке спортсменов, N=212, частота аллеля *198Pro* составила 53,8%, частота аллеля *198Leu* составила 46,2%, генотип *198ProPro* составил 32,1%, генотип *198ProLeu* составил 43,4%, генотип *198LeuLeu* составил 24,5%.

Результаты генотипирования полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* показали, что частота гомозигот по мутантным и функциональным аллелям и локусам в общей популяционной выборке соответствует данным, показанным в европеоидных популяциях. В общей популяции испытуемых, N=1307, частота аллеля *677C* составила 60,3%, частота аллеля *677T* составила 39,7%, генотип *677CC* составил 42,1%, генотип *677CT* составил 40,2%, генотип *677TT* составил 17,7%, в том числе у детей группы ЧБД, N=809, частота аллеля *677C* составила 69,3%, частота аллеля *677T* составила 30,7%, генотип *677CC* составил 47,3%, генотип *677CT* составил 44,2%, генотип *677TT* составил 8,5%, в общей выборке спортсменов, N=212, частота аллеля *677C* составила 65,1%, частота аллеля *677T* составила 34,9%, генотип *677CC* составил 48,1%, генотип *677CT* составил 34,4%, генотип *677TT* составил 17,5%.

Выводы.

1. Полиморфные варианты генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (*GSTM1*, *GSTT1*(делеции)), антиоксидантной системы *GPX1*(*Pro198Leu*), фолатного цикла *MTHFR*(*C677T*) у часто болеющих детей и спортсменов отличались широким аллельным разнообразием.

2. У детей, группы часто болеющих, преобладали мутантные низко активные аллели, у спортсменов - функциональные аллели перечисленных генов.
3. Установлена статистически значимая ассоциация полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (*GSTM1*, *GSTT1*(делеции)), антиоксидантной системы *GPX1(Pro198Leu)*, фолатного цикла *MTHFR(C677T)* с риском частых острых респираторных заболеваний у детей группы часто болеющих.
4. Все установленные в исследовании ассоциации представлены впервые.

Литература:

1. Ахмадишина, Л. З., Корытина, Г. Ф., Кочетова, О. В. Ассоциация полиморфных маркеров генов семейства цитохрома P450 и ферментов антиоксидантной защиты с развитием хронических заболеваний респираторной системы у детей / Г. Ф. Корытина, Л. З. Ахмадишина, О. В. Кочетова. - М.: Медицинская генетика: ежемесячный научно-практический журнал, 2007. – Том 6, N 8. – С. 42-48.
2. Ахметов, И.И. Влияние генов-регуляторов на метаболизм при различных типах мышечной деятельности / И.И. Ахметов. - М.: Сб. неуч. тр. аспирантов СПбНИИФК. – СПб: СПбНИИФК. — 2005. - С.7-9.
3. Вавилин, В.А. Ассоциация полиморфных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к бронхиальной астме / В.А. Вавилин. - М.: Генетика.- 2002. -Т.38.- №4.-С.539-545.
4. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров. – М.: Сорос образов. журн. 2000.- № 12. -С. 20–26.
5. Дубинина, Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е. Е. Дубинина. - М.: Вопр. медицинской химии. – 2001. - №6. С.23-40.
6. Иванов, В.П., Полоников, А.В., Солодилова, М.А. и др. Анализ ассоциации делеционных полиморфизмов генов глутатион-S-трансфераз *GSTM1* и *GSTT1* с предрасположенностью к бронхиальной астме и особенностями ее клинических проявлений в курской популяции / В.П. Иванов, А.В. Полоников, М.А. Солодилова и др. - М.: Курский науч. - практ. вест. "Человек и его здоровье". – 2005. – № 3. – С. 49-55.
7. Камилов, Ф.Х. Характеристика свободнорадикальных процессов и антирадикальной защиты у школьников младших классов при воздействии антропогенных факторов среды /Ф.Х. Камилов, В.А. Соцкова, Р.К. Максимова, Ф.А. Сагидуллин. - М.: Академический журнал Западной Сибири.-2007.-№3.-С.41-44.
8. Кулинский, В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В.И. Кулинский.- М.: Соросовский образовательный журнал. – 1999. – №1. – С.2-7.
9. Linnane, A. W., Kios, V., Vitetta, L. Healthy aging: regulation of the metabolite by cellular red ox modulation and prooxidant signaling systems: the essential roles of superoxide anion and hydrogen peroxide / A. W. Linnane, V. Kios, L. Vitetta. - М.: Biogerontology.-2007. -Vol. 8. - P. 445–467.
10. Pollack, M., Leeuwenburgh, C. Molecular mechanisms of oxidative stress in aging: free radicals, aging, antioxidants and disease // In: Handbook of oxidants and antioxidants in exercise / M. Pollack, C. Leeuwenburgh. – М. J. Biol. Chem.-2000. –P. 881–921.
11. Watkins, D., Ru, M., Hwang, H.Y., et al. Hyperhomocysteinemia due to methionine synthase deficiency: structure of the *MTHFR* gene, genotype diversity, and recognition of a common mutation C677T/ D. Watkins, M. Ru, H.Y. Hwang et al. - М.: Am. J. Hum. Genet. – 2002. – Vol. 71. – P.143-153.