

©В.М. Запорожан, Є.А. Полякова

**ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОЛІМОРФІЗМИ ГЕНІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ
КСЕНОБІОТИКІВ У ПАЦІЄНТОК З СПКЯ***Одеський національний медичний університет*

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОЛІМОРФІЗМИ ГЕНІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ У ПАЦІЄНТОК З СПКЯ. Метою роботи була оцінка частоти функціональних поліморфізмів генів ферментів системи біотрансформації ксенобіотиків у пацієнток з СПКЯ. Встановлено, що у жінок з СПКЯ частота делеційного поліморфізму GSTT1 *0 складає 63,3 % (у контрольній групі – 40,9 %), а частота делеційного поліморфізму GSTM1 *0 – 80,0 % (у контрольній групі – 36,7 %). Поєднаний генотип GSTM1del+GSTT1del спостерігався у 53,3 % жінок з СПКЯ та у 13,6 % здорових жінок. Таким чином, статистично значущі відмінності між основною та контрольною групою спостерігалися лише за частотою делеції гену GSTM1 ($\chi^2=8,45$ $p=0,004$) та частотою поєднання делецій за генами GSTT1 та GSTM1 ($\chi^2=6,99$ $p=0,008$). Встановлено, що ризик виникнення СПКЯ у жінок з делецією за геном GSTM1 зростає в 7 разів (OR=7,0 CI 95 % (3,2; 15,5), а при сполученні делецій за генами GSTM1 і GSTT1 – у 7,2 разів (2,6; 20,1). Обговорюються перспективи застосування скринінгу на функціональні поліморфізми генів біотрансформації ксенобіотиків у складі лікувально-діагностичного алгоритму у неплідних жінок з СПКЯ.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ У ПАЦИЕНТОК СО СПКЯ. Целью работы была оценка частоты функциональных полиморфизмов генов ферментов системы биотрансформации ксенобиотиков у пациенток со СПКЯ. Установлено, что у женщин со СПКЯ частота делецийного полиморфизма GSTT1 *0 составляет 63,3 % (в контрольной группе – 40,9 %), а частота делецийного полиморфизма GSTM1 *0 – 80,0 % (в контрольной группе – 36,7 %). Сочетанный генотип GSTM1del+GSTT1del наблюдался в 53,3 % женщин с СПКЯ и в 13,6 % здоровых женщин. Таким образом, статистически значащие отличия между основной и контрольной группой наблюдались только по частоте делеции гена GSTM1 ($\chi^2=8,45$ $p=0,004$) и частоте сочетания делеций по генам GSTT1 и GSTM1 ($\chi^2=6,99$ $p=0,008$). Установлено, что риск возникновения СПКЯ у женщин с делецией по гену GSTM1 возрастает в 7 раз (OR=7,0 CI95 % (3,2; 15,5), а при сочетании делеций по генам GSTM1 и GSTT1 – в 7,2 раз (2,6; 20,1). Обсуждаются перспективы применения скрининга на наличие функциональных полиморфизмов генов биотрансформации ксенобиотиков в составе лечебно-диагностического алгоритма у бесплодных женщин со СПКЯ.

FUNCTIONAL POLYMORPHISMS OF XENOBIOTIC TRANSFORMATION GENES AMONG PATIENTS WITH PCOS. The study was aimed to assess the prevalence of functional polymorphism of xenobiotic metabolism genes amongst patients with PCOS. There was stated that the females suffering PCOS has frequency of GSTT1 *0 polymorphism at 63,3 % (in the control group – 40,9 %), whereas the frequency of GSTM1 *0–80,0 % (vs 36,7% in the control group). Combined genotype GSTM1del+GSTT1del was found in 53,3 % of females with PCOS and in 13,6 % of healthy females. Thus statistically significant difference were observed only for the frequency by GSTT1 and GSTM1 ($\chi^2=6,99$ $p=0,008$). The risk of PCOS occurrence is increased in 7 folds (OR=7,0 CI 95 % (3,2; 15,5) if females have GSTM1 deletion and in 7,2 folds (2,6; 20,1) if they have both GSTM1 and GSTT1 deletion. There are discussed the perspectives of the implementation of screening for functional polymorphisms of xenobiotic metabolism genes in the complex diagnosis and treatment algorithms amongst infertile patients with PCOS.

Ключові слова: синдром полікістозних яєчників, неплідність, гени ферментів біотрансформації ксенобіотиків, глутатіонтрансфераза, функціональний поліморфізм

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников, бесплодие, гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков, глутатионтрансфераза, функциональный полиморфизм

Key words: polycystic ovarian syndrome, infertility, xenobiotic metabolism genes, glutathiontraspherase, functional polymorphism.

ВСТУП. Синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) належить до числа найбільш поширених у гінекологічній практиці клінічних симптомокомплексів. Він характеризується оліго- або аменореєю, що сполучається з ендокринними зрушеннями у вигляді підвищення рівня ЛГ, андростендіону й тестостерону на тлі нормального або зниженого змісту ФСГ у плазмі периферичної крові. Менш постійними ознаками СПКЯ є гірсутизм, ожиріння й збільшення яєчників [1, 2].

Частота виявлення СПКЯ становить 1,4 % від загального числа лапаротомій у гінекологічній клініці; при обстеженні вибіркового контингенту жінок, що страждають на неплідність, частота виявлення хвороби складає від 0,6 до 4,3%. Ряд дослідників називають інші діапазони коливань частоти даної патології серед гінекологічних хворих – від 1,8 до 11 %, а серед хворих, у яких порушення менструального ритму сполучаються з гірсутизмом, – навіть 68 % [1].

Питанням патогенезу СПКЯ присвячено значну кількість наукових робіт. Відповідно до однієї з розповсюджених гіпотез про генез СПКЯ, в основі пато- і морфогенезу типової форми цього захворювання лежить первинний, генетично обумовлений дефіцит ферментів яєчників [1, 2]. Поряд із загальновідомими механізмами у вигляді порушення заключного етапу стероїдогенезу у вигляді дефіциту 19-гідроксилази або рідше 13-ол-дегідрогенази деякі дослідники розглядають у якості ймовірних патогенетично значущих механізмів генетично детерміновану дисфункцію ферментів системи детоксикації ксенобіотиків [3, 4].

Метаболізм (біотрансформація) ксенобіотиків здійснюється шляхом складної системи ферментів та представляє 3 послідовних етапа: активація (фаза 1), детоксикація (фаза 2) та виведення (фаза 3) [3]. В залежності від активності процесів метаболізму ксенобіотиків різні індивіди можуть зберегати стійкість,

або, навпаки, проявити підвищену чутливість до зовнішньосередових агентів, що виявляється у високій прихильності до патології репродукції. Так, згідно літературним даним, наявність делецій в генах глутатіон-S-трансфераз (GSTM1, GSTT1) виявляє позитивну асоціацію зі звичним невиношуванням вагітності, гестозами, ендометріозом, ановуляцією та передчасним старінням яєчників шляхом руйнування оваріальних фолікулів [5]. Нещодавно проведені дослідження припускають, що біоактивація ксенобіотиків ферментами першої фази детоксикації, можливо, призводить до формування вільних кисневих радикалів (ROS), які, можливо, пошкоджують внутрішньоклітинні сигнальні шляхи у премордальних фолікулах [6]. Ризик такого ушкодження зростає при зниженій активності ферментів 2-ї фази, в тому числі глутатіон-S-трансфераз [3, 5].

Втім незважаючи на суттєвий прогрес у дослідженні генетичних механізмів розвитку СПКЯ та асоційованого з ним непліддя, роль функціональних поліморфізмів генів глутатіон-S-трансфераз досі є недостатньо дослідженою.

Метою роботи була оцінка частоти функціональних поліморфізмів генів ферментів системи біотрансформації ксенобіотиків у пацієнток з СПКЯ

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Дослідження виконане на клінічній базі кафедри акушерства й гінекології № 1 ОНМедУ, у НДІ НТПЗ ОНМедУ та гінекологічному відділенні МКЛ № 9 м.Одеси. Обстежено 30 жінок з клінічно верифікованим діагнозом СПКЯ, у якості контролю обстежено 22 практично здорових жінок, що зверталися до клініки в рамках програми обстеження при чоловічому факторі неплідності. Середній вік обстежених склав $27,6 \pm 1,4$ років.

Крім програми дослідження, регламентованої наказом МОЗУ № 676 від 31.12.2004 пацієнтки були обстежені на наявність делеційного поліморфізму генів GSTT1 та GSTM1. У якості біологічного матеріалу для виділення ДНК використані лімфоцити циркулюючого пулу цільної крові, одержаної натще. Функціональні поліморфізми визначали методом ПЛР із використанням тест-системи «SNP-експрес».

Статистична обробка проводилася шляхом аналізу таблиць спряженості з використанням непараметричного критерію χ^2 . Розраховане значення критерію χ^2 порівнювалося з процентною точкою теоретичного розподілу χ^2 при числі ступенів свободи, яке дорівнювало $(n-1)*(m-1)$, де n та m – відповідна кількість строк та стовпчиків таблиці спряженості та рівні значущості α , заданого на рівні 95 % вірогідності (тобто $\alpha = 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. При дослідженні генотипів обстежених пацієнток з'ясовано (табл. 1), що статистично достовірні

Таблиця 1. Результати мас-спектрометричного дослідження генів-кандидатів GSTT1 та GSTM1

Генотип	Контрольна група		Основна група		
	абс.	%	абс.	%	
GSTT1	«дикий тип» (wt)	13	59,1	11	36,7
	делеція	9	40,9	19	63,3
GSTM1	«дикий тип» (wt)	14	63,6	6	20,0
	делеція	8	36,7	24	80,0
GSTM1del+GSTT1del	3	13,6	16	53,3	

відмінності між основною та контрольною групою спостерігалися лише за частотою делеції гену GSTM1 ($\chi^2=8,45$ $p=0,004$) та частотою поєднання делецій за генами GSTT1 та GSTM1 ($\chi^2=6,99$ $p=0,008$).

Таким чином, ризик виникнення СПКЯ у жінок з делецією за геном GSTM1 зростає в 7 разів (OR=7,0 CI95% (3,2; 15,5), а при сполученні делецій за генами GSTM1 і GSTT1 – у 7,2 разів (2,6; 20,1).

Відомо, що функціональна роль суперсемеїства глутатіон-S-трансфераз (GSTs) полягає у ферментативній кон'югації сульфгідрильної (SH-) групи з електрофільними молекулами самих ксенобіотиків або їх метаболітів, що утворилися в процесі фази 1. Ця біохімічна реакція відіграє ключову роль у забезпеченні резистентності кліток до ПОЛ, алкілування білків і других процесів за участю вільних радикалів [5]. Синтез глутатіон-S-трансфераз контролюється генами, розташованими на різних хромосомах, для кожного з них описаний ряд поліморфних варіантів, які впливають на функціональну активність ферментів. Поліморфізм ферментів сімейства глутатіон-S-трансфераз значною мірою визначає індивідуальну чутливість організму до впливу факторів зовнішнього середовища [3, 5].

Глутатіон-S-трансферази присутні у різних тканинах, при цьому виявляються виражені міжтканинні розходження. Особливо високою є їх концентрація в печінці, плаценті, легенях, мозку, нирках та кишечнику [5, 6].

До теперішнього часу в людини описано кілька класів цитозольних глутатіон-S-трансфераз: α (GST A), μ (GST M), π (GST P), θ (GST T), κ (GST K), σ (GST S), ω (GST O) і ζ (GST Z) [6]. Розподіл на класи заснований на ступені гомології амінокислотних послідовностей цих ферментів і їх імуноактивності. Деякі з генів, що кодують цих білки, характеризуються значним популяційним поліморфізмом [3–5].

Глутатіон-S-трансферази класу M у людини експресуються переважно в легенях, а також у печінці, нирках, надниркових залозах, шлунку. Виявлено п'ять різних генів, що кодують глутатіон-S-трансферази класу M (GSTM1, M2, M3, M4, M5) [6]. Ген, що кодує ізоформу ферменту GSTM1, картований в ділянці Iq13.3, є поліморфним і утворює чотири алейних варіанти: GSTM1*A, *B, *C і *0 [7]. Перші два алейні не мають функціональних відмінностей між собою. Алель *C зустрічається в різних популяціях край рідко. Варіант *0 – нульовий алей (делеція усередині гена довжиною близько 10 тис. п.о.) на рівні фенотипу проявляється як відсутність ферменту GSTM1.

Гомозиготне носійництво делеції гена GSTM1 (генотип GSTM1 0/0, «нульовий» генотип) широко представлений у популяції людини, досягаючи в деяких популяційних групах до 50 % [7]. У російської популяції частота генотипу GSTM1 0/0 становить від 35 до 50 %, в українській та східноєвропейській – від 15 до 30 % [7]. Ген GSTT1 картований на 22 хромосомі (22q1.2) [8], його поліморфізм обумовлений делецією, що супроводжується формуванням двох типів алей: функціонально активного (GSTT1*1) і не активного або нульового (GSTT1*0). Алей GSTT1*0 призводить до відсутності синтезу ферменту. Частота нульового генотипу в європейських популяціях становить 15–20 %, у популяціях Східної Азії досягає 40 % [5, 8]. У деяких

дослідженнях відзначається важлива роль даного ферменту в утилізації продуктів вільнорадикального окислювання, тобто він є частиною захисту легенів від ушкодження вільними радикалами й розвитку оксидативного стресу. Глутатіон-S-трансфераза Т може впливати на рівень ейкозаноїдів, метаболітів арахідонової кислоти, які стимулюють біосинтез стероїдних гормонів, через модуляцію рівня вільних радикалів [5]. Таким чином одержані під час виконання дослідження дані цілком узгоджуються з літературними.

Слід зазначити, що вибірка пацієнтів на якій проведено пілотне дослідження є невеликою за розмірами. Втім, одержані результати свідчать про те, що функціональні поліморфізми генів біотрансформації ксенобіотиків певною мірою асоційовані із ризиком розвитку СПКЯ, причому найбільш прогностично несприятливим є сполучення делецій за генами GSTM1 і GSTT1.

ВИСНОВКИ. 1. Частота делеційного поліморфізму GSTT1 *0 складає 63,3 % (у контрольній групі –

40,9 %), а частота делеційного поліморфізму GSTM1 *0 – 80,0 % (у контрольній групі – 36,7 %).

2. Поєднаний генотип GSTM1del+GSTT1del спостерігався у 53,3 % жінок з СПКЯ та у 13,6 % здорових жінок.

3. ризик виникнення СПКЯ у жінок з делецією за геном GSTM1 зростає в 7 разів (OR=7,0 CI 95 % (3,2; 15,5)), а при сполученні делецій за генами GSTM1 і GSTT1 – у 7,2 разів (2,6; 20,1).

4. Є доцільним проведення скринінгу на функціональні поліморфізми генів біотрансформації ксенобіотиків у складі лікувально-діагностичного алгоритму у неплідних жінок з СПКЯ.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Подальше вивчення окремих ланок патогенезу, та механізмів СПКЯ, дозволить розширити наші уявлення про генетично обумовлені особливості дефіциту ферментів ячників. Перспективним залишається дослідження генетичних механізмів розвитку СПКЯ, роль функціональних поліморфізмів генів глутатіон-S-трансфераз досі є недостатньо дослідженою.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Синдром поликистозных яичников / И.И. Дедова, Г. А. Мельниченко — Медицинское информационное агентство, 2007. — 370 с.
 2. Polycystic Ovarian Syndrome: An Enigmatic Endocrinological Disorder (Obstetrics and Gynecology Advances) / Rosa Sabatini Nova Science Pub Inc; 1 ed. — 2011 — 297 p.
 3. Polycystic ovary syndrome (PCOS). / Dewailly D, Hieronimus S, Mirakian P, Hugues JN. // Ann Endocrinol (Paris). — 2010 — 71(1) — P. 8–13.
 4. Молекулярна епідеміологія / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, В. Й. Кресюн [та ін.]. — Одеса : ОДМУ, 2010. — 316 с.
 5. Glutathione S-Transferases: Structure, Function and Clinical Implications / G. J. Mulder, W. H. M. Peters,

N. P.E. Vermeulen, P. J. van Bladeren NY., CRC Press; 1 ed. — 1996 — 250 p.

6. Sies H. Methods in Enzymology, Volume 401: Glutathione Transferases and gamma-Glutamyl Transpeptidases / H. Sies, Boston, Lester Packer Academic Press; 1 ed. — 2005 — 928 p.

7. GSTM1 Gene. Gene Cards. The Human Gene Compendium. Електронний ресурс. Режим доступу: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTM1&search=gstm1>

8. GSTT1 Gene. Gene Cards. The Human Gene Compendium. Електронний ресурс. Режим доступу: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTT1&search=GSTT1>

Отримано 14.01.12 р.