

УДК 575.1

З.И. Бисултанова, М.М. Ацаева, П.М. Джамбетова<sup>1</sup>**РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *SOD2*,  
*GSTT1*, *GSTM1* И *GSTP1* В РАЗВИТИИ РАКА  
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН ЧЕЧЕНСКОЙ  
ПОПУЛЯЦИИ**

В работе изучена роль полиморфных вариантов генов антиоксидантной защиты *SOD2* T/C (Ala16Val), *GSTP1* A/G (Ile105Val), *GSTM1* и *GSTT1* Ins/Del в развитии злокачественных новообразований (ЗНО) груди у 564 женщин (208 женщин с диагнозом рак молочной железы (РМЖ), 356 контрольная группа) чеченской популяции. Для изученной популяции отмечается повышенная частота полиморфизма Ala16Val, ассоциированного с формированием злокачественных опухолей, в том числе с ЗНО молочных желез, однако различия носят статистически недостоверный характер. Результаты свидетельствуют об отсутствии ассоциации между наличием полиморфных вариантов *SOD2* Ala16Val (T/C), *GSTP1* (A/G), а также делеций генов *GSTM1* и *GSTT1* и развитием рака молочной железы у женщин чеченской популяции.

**Ключевые слова:** гены антиоксидантной системы, рак молочной железы, чеченская популяция, полиморфные варианты.

Активные формы кислорода (АФК) образуются в норме в ходе реакций окислительного фосфорилирования, являющихся частью клеточного метаболизма. В норме самопроизвольное аутоокисление клетки нейтрализуется сложной системой антиоксидантной защиты, главными компонентами которой являются ферменты каталаза (CAT), супероксиддисмутазы (SOD), параоксаназа (PON), глутатионпероксидаза (GPx) и многочисленные неферментативные антиоксиданты [2]. Дисбаланс в образовании и нейтрализации продуктов клеточного дыхания, срыв антиоксидантной защиты или комбинация обоих факторов сопровождается возникновением в клетках оксидативного стресса, что характеризуется развитием повреждений избытком свободных радикалов клеточных элементов и тканей, составляющих синдром пероксидации и включающий следующие изменения: повреждение мембран; инактивацию или трансформацию ферментов; торможение репродуктивных процессов; накопление в клетке инертных продуктов полимеризации [11]. Выраженный оксидативный стресс утяжеляет течение многих наиболее распространенных болезней и состояний или даже участвует в их патогенезе [2]. Эффектив-

<sup>1</sup>© Бисултанова З.И., Ацаева М.М., Джамбетова П.М., 2016

Бисултанова Зура Исановна (mail@chesu.ru), Ацаева Марет Махмудовна (mail@chesu.ru), Джамбетова Петимат Махмудовна (petimat-1g@rambler.ru), кафедра клеточной биологии, морфологии и микробиологии, Чеченский государственный университет, 364907, Российская Федерация, г. Грозный, ул. А. Шерипова, 32

ность работы защитных систем организма определяется индивидуальными генетическими особенностями организма. Известно несколько потенциально значимых генетических вариантов, связанных с окислительным стрессом [14]. Большинство из генетических вариантов сопровождаются изменениями в уровнях экспрессии кодируемых ими ферментов или в их функциях, в целом приводящее к снижению защиты от окислительного стресса, что, в свою очередь, провоцирует развитие различных патологических процессов в организме. К настоящему времени накоплено множество данных, указывающих на роль полиморфизма генов антиоксидантной защиты в злокачественном перерождении тканей [7–9]. Анализ литературных данных указывает на наличие этнической дифференциации в характере получаемых результатов, что подчеркивает важность проводимых популяционных исследований в этой области.

В настоящей статье исследована роль полиморфных вариантов генов антиоксидантной защиты: *SOD2* T/C (Ala16Val), *GSTP1* A/G (Ile105Val), *GSTM1* и *GSTT1* Ins/Del в развитии злокачественных новообразований груди у женщин чеченской популяции [3; 6; 9; 12].

## Материал и методы исследования

В исследовании приняли участие 208 женщин (от 19 до 76 лет) с диагнозом "рак молочной железы" (РМЖ), контрольную группу составили 356 здоровых лиц женского пола, у которых на момент забора крови не было выявлено подобной патологии. Все относятся к одной этнической группе. Участвовавшие в исследовании женщины были проинформированы о цели исследования. Для анализа полиморфных вариантов генов оксидативного стресса взято 2–5 мл периферической крови с использованием вакуумных пробирок с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Для выделения ДНК использовались стандартные наборы Diatom DNA Prep 100 (ООО "Изоген"). Определение генотипов проводилось тетрапраймерной аллель-специфической полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Детекцию полученных продуктов амплификации осуществляли методом гелеэлектрофореза в 2 % агарозном геле, амплифицированный на 1-кратном ТВЕ-буфере.

Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета прикладных программ "Statistica 6".

## Результаты исследования

Данные генотипирования полиморфных вариантов генов *SOD2* Ala16Val (47T>C), *GSTP1* Ile105Val (313A>G), делеционного полиморфизма генов *GSTM1* и *GSTT1* представлены в табл. 1 и 2. Полученные частоты генотипов для полиморфных вариантов изученных генов в настоящей работе близки к значениям в других европеоидных популяциях.

Анализ частоты генотипов в группе женщин с диагнозом РМЖ и контрольной группы по изучаемому полиморфизму гена *SOD2* T47C показал, что гетерозиготных носителей мутантного аллеля С-генотип T/C больше в группе больных (54,37 %), чем в контроле (49,58 %), в то время как гомозиготный генотип T/T (дикий тип) чаще встречается у здоровых женщин (32,49 %), чем у больных (28,64 %), OR = 1,21. Однако данные различия носят статистически недостоверный характер (P = 0,294). Частота гомозигот по аллельному варианту С у жен-

щин с диагнозом РМЖ и здоровых женщин отличаются незначительно (17,23 % и 16,99 % соответственно) (табл. 1).

Таблица 1

**Частота генотипов полиморфных вариантов генов *SOD2* Ala16Val (47T>C) и *GSTP1* (313 A>G)**

| SOD2       |         |       | GSTP1   |     |       |
|------------|---------|-------|---------|-----|-------|
| Control -0 | n = 357 |       | n = 358 |     |       |
| 0          | abc     | %     | 0       | abc | в %   |
| C/C        | 64      | 17,93 | A/A     | 160 | 44,69 |
| T/C        | 177     | 49,58 | A/G     | 163 | 45,53 |
| T/T        | 116     | 32,49 | G/G     | 35  | 9,78  |
| Case - 1   |         |       | n = 206 |     |       |
| 1          | abc     | %     | 1       | abc | в %   |
| C/C        | 35      | 16,99 | A/A     | 78  | 37,86 |
| T/C        | 112     | 54,37 | A/G     | 104 | 50,49 |
| T/T        | 59      | 28,64 | G/G     | 24  | 11,65 |

Изучение результатов генотипирования наиболее распространенного полиморфного варианта гена *GSTP1* G, приводящего к замене изолейцина на валин в положении 105, обнаружило высокий уровень гетерозигот (генотип AG) у женщин с раком груди по сравнению с гомозиготами дикого типа AA: 50,49 % против 37,86. В контрольной группе наблюдается незначительное отклонение значений гомозиготного по мажорному аллелю A и гетерозиготного генотипов: 44,69 и 45,53 % соответственно.

Ассоциативный анализ полиморфного варианта G гена *GSTP1* с риском развития рака молочной железы у женщин чеченской популяции не выявил достоверных различий ( $p=0,132$ ) ( $R = 1,33$  95 % C.I. = 0,93 to 1.88)

Полиморфные варианты по делециям генов *GSTT1* и *GSTM1* были проверены посредством мультиплексного ПЦР (табл. 2). Используемая методика постановки ПЦР не позволяет различать гетерозиготные по делециям генотипы в генах *GSTM1* и *GSTT1*, поэтому гомозиготы по инсерции и гетерозиготы были рассмотрены вместе как ненулевой генотип по отношению к нулевому генотипу — гомозигот по делеции. По результатам генотипирования, представленным в табл. 2, можно отметить, что частота нулевых и ненулевых генотипов по обоим локусам у больных женщин не отличаются от таковой у женщин контрольной группы.

Таблица 2

**Распределение нулевых генотипов генов *GSTM1* и *GSTT1* в группе больных и здоровых женщин**

|                      | <i>GSTT1</i> |         | <i>GSTM1</i> |         |
|----------------------|--------------|---------|--------------|---------|
| Control -0, Case - 1 |              |         |              |         |
| 0                    | n = 358      |         |              |         |
| Del/Del              | 49           | 13,69 % | 188          | 52,51 % |
| Ins/Del              | 309          | 86,31 % | 170          | 47,49 % |
| 1                    | n = 206      |         |              |         |
| Del/Del              | 28           | 13,59 % | 105          | 50,97 % |
| Ins/Del              | 178          | 86,41 % | 101          | 49,03 % |

## Обсуждение результатов исследования

Клетка строит защиту от свободных радикалов с помощью ферментов тремя путями с помощью супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы; глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы. Системе глутатиона отводится одна из ключевых ролей в защите клетки от оксидативного стресса [4; 10]. Глутатион-S-трансферазы (GSTs), участвующие в нейтрализации АФК и в детоксикации ксенобиотиков, образуют целое семейство ферментов, относящихся к 4-м классам: мю, тета, пи и альфа. Глутатион-S-трансферазы класса мю кодируется геном *GSTM1*. Образование ферментов класса тета детерминируют гены *GSTT1* и *GSTT2*. *GSTP1* отвечает за синтез глутатион-S-трансферазы класса пи. У носителей нулевых генотипов генов *GSTM1* и *GSTT1* кодирующие последовательности генов нарушены из-за протяженных делеций, и синтез глутатион-S трансфераз класса мю и тета отсутствует. Основным полиморфизмом гена *GSTP1* — является транзиция в экзоне 5 (A313G). Полиморфный вариант Ile105Val гена *GSTP1* определяет пониженную концентрацию соответствующего фермента в клетках. Следствием указанных мутаций является повышенная концентрация токсичных метаболитов в клетках, что провоцирует развитие патологических сценариев [2]. В ряде популяций показано, что полиморфные маркеры генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ассоциированы с риском развития РМЖ [1; 7; 9; 13]. В настоящем исследовании не выявлены достоверные отличия в распределении генотипов в группе больных женщин и здоровых, что указывает на отсутствие эффекта со стороны ферментов глутатион-трансфераз, кодируемых генами *GSTT1* и *GSTM1* в эпигенезе РМЖ в чеченской популяции. Сравнительный анализ частоты полиморфизма гена *GSTP1* показывает превышение частоты встречаемости полиморфного аллеля G у онкобольных в чеченской популяции, и что носительство полиморфного аллеля может быть связано с риском развития РМЖ. Однако полученные результаты статистически незначимы.

Другим ключевым ферментов антиоксидантной системы является фермент супероксиддисмутаза. Известно три типа супероксиддисмутаз: цитозольная, марганецзависимая и внеклеточная. Марганецзависимая супероксиддисмутаза (Mn-SOD2) локализуется в митохондриях и кодируется геном *SOD2*. Наиболее широко изучен полиморфизм 47T/C гена *SOD2*, приводящий к замене аланина на валин. Ассоциативные исследования полиморфизма гена *SOD2* с онкопатологией выявили связь полиморфных вариантов этого гена с формированием злокачественных опухолей, в том числе с ЗНО молочных желез [3; 6; 9; 12]. Повышенная частота полиморфизма Ala16Val зарегистрирована и в данной работе. Однако различия носят статистически недостоверный характер.

Таким образом, несмотря на то что изученный полиморфизм генов антиоксидантной защиты организма приводит к различным по степени изменениям функциональной активности ферментов и способствует снижению работы защитных механизмов, определяющих широкий спектр патологических процессов, результаты настоящего исследования свидетельствуют об отсутствии выраженной связи изученного полиморфизма генов с развитием рака молочной железы у женщин чеченской популяции.

## Литература

- [1] Ассоциация полиморфных маркеров генов биотрансформации ксенобиотиков с риском молочной железы у женщин московского региона / А.М. Бурденный [и др.] //

Молекулярная медицина: кварталный научно-практический журнал, 2012. № 5. С. 30–34.

- [2] Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении / В.И. Донцов [и др.] // Труды ИСА РАН. 2006. Т. 19. С. 50–69.
- [3] Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Этногеографические маркеры антиоксидантной системы (обзор литературы) // Бюллетень ВШЦ СО РАМН. 2013. № 4(92). С. 166–170.
- [4] Polymorphisms at GSTM1, GSTP1, GSTT1 Detoxification Genes Loci and Risk of Breast Cancer in Kazakhstan Population / T.S. Balmukhanov [et al.] // Advances in Breast Cancer Research. 2013. № 27. С. 114–118.
- [5] Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans / M. Bastaki [et al.] // Pharmacogenetics Genom. 2006. № 16. P. 279–286.
- [6] Manganese superoxide dismutase in breast cancer: From molecular mechanisms of gene regulation to biological and clinical significance / P. Becuwe [et al.] // Free Radic Biol Med. 2014. V. 77. P. 139–151.
- [7] Franco R., Schoneveld O. Georgakilas AG and Panayiotidis MI. Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis // Cancer Lett. 2008. № 266. P. 6–11.
- [8] Hayes J.D., Strange R.C. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences // Pharmacology. 2000. V. 61. № 3. P. 154–166.
- [9] Hermes-Lima M. In: In Functional Metabolism: Regulation and Adaptation // New Jersey: Hoboken, 2004. P. 319–368.
- [10] Janicka A., Szymańska-Pasternak J., Bober J. Polymorphisms in the oxidative stress-related genes and cancer risk // Ann Acad Med Stetin. 2013. № 59(2). P. 18–28.
- [11] Genetic polymorphism at the glutathione S-transferase (GST) P1 locus is a breast cancer risk modifier / Christine M. Maugard [et al.] // International Journal of Cancer. 2001. V. 91. Is. 3. P. 334–339.
- [12] Association between polymorphisms in glutathione peroxidase and selenoprotein P genes, glutathione peroxidase activity, HRT use and breast cancer risk / C. Méplan [et al.] // PLoS One. 2013. V. 10. № 8(9). P. 1–9.
- [13] Morgenstern R. Oxidative Stress and Human Genetic Variation // J. Nutr. 2004. V. 134. P. 3173–3174.
- [14] SOD2 to SOD1 Switch in Breast Cancer / L. Papa [et al.] // Journal of biological chemistr. 2014. № 9. P. 5412–5416.
- [15] Urso M.L., Clarkson P.M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation // Toxicology. 2003. № 189. P. 41–54.

## References

- [1] Bourdenay A.M., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Nosikov V.V., Loginov V.I. Assotsiatsiia polimorfnykh markerov genov biotransformatsii ksenobiotikov s rakom molochnoi zhelezy u zhenshchin moskovskogo regiona [Association of polymorphic markers of genes of biotransformation of xenobiotics with breast cancer in women in the Moscow Region]. *Molekuliarnaia meditsina: kvartal'nyi nauchno-prakticheskii zhurnal* [Molecular Medicine: quarterly scientific journal], 2012, no. 5, pp. 30–34 [in Russian].
- [2] Dontsov V.I., Krut'ko V.N., Mrikaev B.M., Ukhanov S.V. Aktivnye formy kisloroda kak sistema: znachenie v fiziologii, patologii i estestvennom starenii [Reactive oxygen species as a system: the value in the physiology, pathology and natural aging]. *Aktivnye formy kisloroda kak sistema: znachenie v fiziologii, patologii i estestvennom starenii* [Proceedings of ISA RAS], 2006, Vol. 19, pp. 50–69 [in Russian].

- [3] Kolesnikova L.I., Bairova T.A., Pervushina O.A. Etnogeograficheskie markery antioksidantnoi sistemy (obzor literatury) [Ethnogeographical markers of antioxidant system (review)]. *Biulleten' VSNTs SO RAMN* [Bulletin of East Siberian Scientific Center SB RAMS], 2013, no. 4(92), pp. 166–170 [in Russian].
- [4] Balmukhanov T.S., Khanseitova A.K., Nigmatova V.G., Ashirbekov E.E., Talaeva Sh.Zh., Aitkhozhina N.A. Polymorphisms at GSTM1, GSTP1, GSTT1 Detoxification Genes Loci and Risk of Breast Cancer in Kazakhstan Population. *Advances in Breast Cancer Research*, 2013, no. 27, pp. 114–118 [in English].
- [5] Bastaki M, Huen K, Manzanillo P, Chande N, Chen C, Balmes JR, Tager IB, Holland N. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. *Pharmacogenetics Genom.*, 2006, no. 16, pp. 279–286 [in English].
- [6] Becuwe P., Ennen M., Klotz R., Barbieux C., Grandemange S. Manganese superoxide dismutase in breast cancer: From molecular mechanisms of gene regulation to biological and clinical significance. *Free Radic Biol Med.*, 2014, Vol. 77, pp. 139–151 [in English].
- [7] Franco R., Schoneveld O., Georgakilas A.G., Panayiotidis M.I. Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis. *Cancer Lett.*, 2008, no. 266, pp. 6–11 [in English].
- [8] Hayes J.D., Strange R.C. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*, 2000, Vol. 61, no. 3, pp. 154–166 [in English].
- [9] Hermes-Lima M. In: *In Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. New Jersey: Hoboken, 2004, pp. 319–368 [in English].
- [10] Janicka A, Szymanska-Pasternak, Bober J. Polymorphisms in the oxidative stress-related genes and cancer risk. *Ann Acad Med Stetin*, 2013, no. 59(2), pp. 18–28 [in English].
- [11] Maugard C.M., Josiane Charrier, Armelle Pitard, Loic Champion, Olanike Akande, Lisa Pleasants. Genetic polymorphism at the glutathione S-transferase (GST) P1 locus is a breast cancer risk modifier. *International Journal of Cancer*, 2001, Vol. 91, Issue 3, pp. 334–339 [in English].
- [12] Méplan C, Dragsted LO, Ravn-Haren G, Tjønneland A, Vogel U, Hesketh J. Association between polymorphisms in glutathione peroxidase and selenoprotein P genes, glutathione peroxidase activity, HRT use and breast cancer risk. *PLoS One*, 2013, Vol. 10, no. 8(9), pp. 1–9 [in English].
- [13] Morgenstern R. Oxidative Stress and Human Genetic Variation. *J. Nutr.*, 2004, Vol. 134, pp. 3173–3174 [in English].
- [14] Papa L., Hahn M., Ellen L.Marsh, Evans B.S., Germain D. SOD2 to SOD1 Switch in Breast Cancer. *Journal of biological chemistry*, 2014, no. 9, pp. 5412–5416 [in English].
- [15] Urso M.L., Clarkson P.M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 2003, no. 189, pp. 41–54 [in English].

*Z.I. Bisultanova, M.M. Atsayeva, P.M. Dzhambetova*<sup>2</sup>

## ROLE OF POLYMORPHIC GENE VARIANTS *SOD2*, *GSTT1*, *GSTM1* AND *GSTP1* IN THE DEVELOPMENT OF BREAST CANCER OF WOMEN OF CHECHEN POPULATION

In the study, we investigated the role of polymorphic variants of genes of antioxidant protection *SOD2* T / C (Ala16Val), *GSTP1* A / G (Ile105Val), *GSTM1* and *GSTT1* Ins / Del in the development of malignancies (External testing) chest 564 women (208 women diagnosed with breast cancer (BC), 356 control group) of the Chechen population. For the studied populations have an increased frequency of polymorphisms Ala16Val, associated with the formation of malignant tumors, including breast External testing, but the differences are statistically insignificant character. The results showed no association between the presence of polymorphic variants *SOD2* Ala16Val (T / C), *GSTP1* (A / G), as well as deletions of genes *GSTM1* and *GSTT1* and the development of breast cancer in women of Chechen populations of cancer.

**Key words:** genes of antioxidant system, breast cancer, Chechen population, polymorphic variants.

Статья поступила в редакцию 14/I/2016.  
The article received 14/I/2016.

---

<sup>2</sup>*Bisultanova Zura Isanovna* (mail@chesu.ru), *Atsayeva Maret Machmudovna* (mail@chesu.ru), *Dzhambetova Petimat Mahmudovna* (petimat-1g@rambler.ru), Department of Cell Biology, Microbiology and Morphology, Chechen State University, 32, Sheripova Street, Grozny, 364907, Russian Federation.