

В.В. Эрдман¹, А.З. Матуа², Т.Р. Насибуллин¹, И.А. Туктарова¹, Ф.А. Горухчиева²,
Х.З. Трапиш², С.Т. Амаба², Л.О. Ахуба², С.Д. Смыр², К.В. Данилко³, Т.В. Викторова³

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ДНК-МАРКЕРОВ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ С ВОЗРАСТОМ В ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЕ АБХАЗОВ*

¹ Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение ФГБУ «Уфимский федеральный исследовательский центр» РАН, 450054, Уфа, пр. Октября, 71, e-mail: danivera@mail.ru; ² Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии, Абхазия, 384900, Сухум, гора Трапезия, 66; ³ Башкирский государственный медицинский университет, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

Впервые в этнической группе абхазов выполнен анализ ассоциаций полиморфных ДНК-маркеров генов антиоксидантной системы *CAT* (*rs1001179*), *MSRA* (*rs10098474*), *GPX1* (*rs1050450*), *GSR* (*rs1002149*), *GSTP1* (*rs1695*), *SOD1* (*rs2070424*), *SOD2* (*rs4880*), *PON1* (*rs662*), *PON2* (*rs7493*) с возрастом. С использованием *ROC*-анализа и логистической регрессии установлено, что спектр частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов *PON1* и *GSTP1* меняется на протяжении всего исследуемого возрастного периода (21–107 лет); распределение частот аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов *CAT* и *SOD2* изменяется на рубеже 60 лет. Методом Монте-Карло марковскими цепями определены мультилокусные генетические маркеры долголетия. У лиц 60–107 лет статистически значимо повышена частота встречаемости паттернов *GSTP1*G/G+PON1*G* ($OR=6,59$, $P_{FDR}=0,018$) и *GSTP1*G/G+SOD1*A* ($OR=3,4$, $P_{FDR}=0,041$); аллель *GSTP1*A* в разных комбинациях с аллелями *PON1*A*, *PON2*C* и *CAT*C* встречается реже ($OR=0,3$, $P_{FDR}<0,05$).

Ключевые слова: продолжительность жизни, долголетие, гены антиоксидантной системы, этническая группа абхазов, мультилокусный анализ ассоциаций

Продолжительность жизни, достижение возраста долголетия зависят от комплекса взаимозависимых факторов, среди которых ведущая роль отводится образу жизни (около 50 % всех причин). Другими словами, способ взаимодействия, с помощью которого организм реагирует на агенты внешней среды, определяет качество жизни и, соответственно, ее продолжительность. Важным эндогенным механизмом, отвечающим за взаимодействие с окружающей средой, является работа ферментов антиоксидантной системы (АОС), ко-

торая участвует в защите организма от побочных продуктов метаболизма кислорода и других проокислительных агентов.

Функционирование АОС в существенной степени находится под генетическим контролем. Получены убедительные данные об ассоциации ряда полиморфных ДНК-маркеров генов АОС с функционированием этих генов и фенотипическими признаками, характерными для некоторых патологических состояний, развивающихся с возрастом, таких как хроническое воспаление, гормональные изменения, мутагенез и в целом снижение адаптационных возможностей стареющего организма [7, 12, 19]. Таким образом, эффективность работы генов системы антиоксидантной защиты является одним из главных факторов, определяющих характер взаимодействия внутренней среды организма с внешними агентами. Соответственно, актуальной задачей, стоящей перед биологической отраслью геронтологии, является выявление в генах АОС молекулярно-генетических маркеров физиологического старения, ограничивающих продолжительность жизни, заболеваний и долголетия.

Известно, что распространение в мире аллелей, ассоциированных с фенотипической адаптацией, имеет выраженную географическую и этническую зависимость [1]. В связи с этим, определение полиморфных маркеров генов АОС у лиц, принадлежащих к разным этническим группам, может помочь раскрыть молекулярные механизмы, отвечающие за приспособление организма к экологическим условиям проживания. Кроме того, изучение

* Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ и АНА (Грант № 19-54-40007) и НИР (№ госрегистрации АААА-А16-116020350031-4); образцы ДНК для исследования взяты из коллекции биологических материалов человека ИБГ УФИЦ РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение №007-030164/2); работа проведена с использованием оборудования ЦКП «Биомика» и УНУ «КОДИНК» (ИБГ УФИЦ РАН).

возрастных особенностей динамики частот аллелей генов, участвующих в приспособлении к внешним факторам, важно для формирования представлений об адаптационной пластичности генетического фона индивида, способствующей сохранению здоровья и увеличению продолжительности жизни. Особенно привлекательны в этом аспекте популяции с высоким индексом долголетия — комплексным показателем степени использования возможности лиц преклонного возраста вносить вклад в жизнь общества и уровня благополучия окружающей среды, к которым, в частности, относятся абхазы [4, 17].

Цель работы — анализ ассоциаций полиморфных ДНК-маркеров генов антиоксидантной системы *CAT* (*rs1001179*), *MSRA* (*rs10098474*), *GPX1* (*rs1050450*), *GSR* (*rs1002149*), *GSTP1* (*rs1695*), *SOD1* (*rs2070424*), *SOD2* (*rs4880*), *PON1* (*rs662*), *PON2* (*rs7493*) с возрастом в этнической группе абхазов.

Материалы и методы

Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения медико-биологических исследований с участием человека в качестве субъекта, закрепленными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование одобрено на заседании локального этического комитета Института биохимии и генетики УНЦ РАН (протокол № 1 от 28.10.2007 г.). Общая выборка сформирована из 264 человек 21–107 лет, которые относятся к следующим возрастным группам [5]: среднего (21–59 лет, $n=99$),

пожилого (60–74 года, $n=65$) и старческого (75–89 лет, $n=57$) возраста и группа долгожителей (90–107 лет, $n=43$). Все участники исследования являлись коренными жителями Абхазии; этническая принадлежность определялась путем сбора сведений о предках в трех поколениях. Вся выборка включала лиц, физически сохранных по сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной системам. Геномную ДНК получали путем фенольно-хлороформного экстрагирования из лимфоцитов 8 мл периферической венозной крови [18].

Аннотация функциональных полиморфных маркеров, выбранных для данного исследования, приведена в табл. 1. Аллельные варианты ДНК-полиморфных сайтов *rs2070424*SOD1*, *rs4880*SOD2*, *rs1001179*CAT*, *rs662*PON1*, *rs1050450*GPX1*, *rs1695*GSTP1* определяли методом ПЦР с последующей обработкой ампликонов эндонуклеазой рестрикции либо с использованием аллель-специфичных праймеров. Условия проведения эксперимента, олигонуклеотидные последовательности для идентификации полиморфных локусов генов были подобраны с помощью приложения PrimerSelect 5.05 из пакета программы DNASTar Inc. и базы данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Фрагменты ДНК электрофоретически разделяли в 2 % агарозном геле, окрашивали в 1 % растворе этидия бромид и визуализировали в ультрафиолетовом свете на гель-документирующей системе «Mega-Bioprint 1100» («Vilber Lourmat», Франция). Идентификацию аллелей полиморфных ДНК-маркеров *rs10098474*MSRA*, *rs7493*PON2*

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфным локусам генов антиоксидантной защиты в этнической группе абхазов ($p \pm s_p$), %

Генотип/аллель	Группа, возраст					P_{χ^2}
	средний (ср)	пожилой (п)	старческий (ст)	долгожители (д)	общая	
CAT (rs1001179, –262C>T, промотор)						
*C/C	57,58±4,97	54,69±6,22	57,89±6,54	53,49±7,61	56,06±3,05	0,578
*T/C	38,38±4,89	25±5,41	35,09±6,32	41,86±7,52	35,23±2,94	
*T/T	4,04±1,98 ⁿ	20,31±5,03 ^{ср ст д}	7,02±3,38 ⁿ	4,65±3,21 ⁿ	8,71±1,74	
*C	76,77±3	67,19±4,15	75,44±4,03	74,42±4,7	73,67±1,92	
*T	23,23±3	32,81±4,15	24,56±4,03	25,58±4,7	26,33±1,92	
MSRA (rs10098474, –402C>T, промотор)						
*C/C	6,12±2,42	4,84±2,73	5,17±2,91	6,98±3,89	60,62±3,04	0,779
*T/C	34,69±4,81	32,26±5,94	36,21±6,31	27,91±6,84	33,59±2,93	
*T/T	59,18±4,96	62,9±6,14	58,62±6,47	65,12±7,27	5,79±1,45	
*C	23,47±3,03	20,97±3,66	23,28±3,92	20,93±4,39	77,41±1,84	
*T	76,53±3,03	79,03±3,66	76,72±3,92	79,07±4,39	22,59±1,84	

Генотип/аллель	Группа, возраст					P_{χ^2}
	средний (ср)	пожилой (п)	старческий (ст)	долгожители (д)	общая	
GPX1 (rs1050450, 593C>T, 2 экзон, 197P>L, миссенс-мутация)						
*C/C	34,02±4,81	26,56±5,52	36,84±6,39	41,86±7,52	33,97±2,93	1,000
*T/C	48,45±5,07	57,81±6,17	45,61±6,6	44,19±7,57	49,62±3,09	
*T/T	17,53±3,86	15,62±4,54	17,54±5,04	13,95±5,28	16,41±2,29	
*C	58,25±3,54	55,47±4,39	59,65±4,59	63,95±5,18	58,78±2,15	
*T	41,75±3,54	44,53±4,39	40,35±4,59	36,05±5,18	41,22±2,15	
GSR (rs1002149, -386G>T, промотор)						
*G/G	60,61±4,91	59,38±6,14	64,91±6,32	60,47±7,46	61,36±3	0,395
*G/T	32,32±4,7	32,81±5,87	29,82±6,06	32,56±7,15	31,82±2,87	
*T/T	7,07±2,58	7,81±3,35	5,26±2,96	6,98±3,89	6,82±1,55	
*G	76,77±3	75,78±3,79	79,82±3,76	76,74±4,56	77,27±1,82	
*T	23,23±3	24,22±3,79	20,18±3,76	23,26±4,56	22,73±1,82	
GSTP1 (rs1695, 313A>G, 5 экзон, 105I>V, миссенс-мутация)						
*A/A	44,44±4,99 ^д	42,19±6,17	39,29±6,53	25,58±6,65 ^{ср}	39,54±3,01	0,443
*A/G	45,45±5 ^{ст}	43,75±6,2	28,57±6,04 ^{ср}	41,86±7,52	41,06±3,03	
*G/G	10,1±3,03 ^{ст д}	14,06±4,35 ^{ст д}	32,14±6,24 ^{ср п}	32,56±7,15 ^{ср п}	19,39±2,44	
*A	67,17±3,34	64,06±4,24	53,57±4,71	46,51±5,38	60,08±2,14	
*G	32,83±3,34	35,94±4,24	46,43±4,71	53,49±5,38	39,92±2,14	
SOD1 (rs2070424, 251A>G, 3 интрон)						
*A/A	86,87±3,39	85,71±4,41	89,29±4,13	86,05±5,28	87,02±2,08	0,391
*A/G	12,12±3,28	14,29±4,41	10,71±4,13	13,95±5,28	12,6±2,05	
*G/G	1,01±1	—	—	—	0,38±0,38	
*A	92,93±1,82	92,86±2,29	94,64±2,13	93,02±2,75	93,32±1,09	
*G	7,07±1,82	7,14±2,29	5,36±2,13	6,98±2,75	6,68±1,09	
SOD2 (rs4880, 116T>C, 2 экзон, 16V>A, миссенс-мутация)						
*C/C	24,24±4,31	19,05±4,95	25±5,79	23,26±6,44	22,9±2,6	0,418
*T/C	45,45±5	42,86±6,23	55,36±6,64	55,81±7,57	48,85±3,09	
*T/T	30,3±4,62	38,1±6,12 ^{ст}	19,64±5,31 ^п	20,93±6,2	28,24±2,78	
*C	46,97±3,55	40,48±4,37	52,68±4,72	51,16±5,39	47,33±2,18	
*T	53,03±3,55	59,52±4,37	47,32±4,72	48,84±5,39	52,67±2,18	
PON1 (rs662, 21573A>G, 6 экзон, 192Q>R, миссенс-мутация)						
*A/A	55,56±4,99 ^д	50,79±6,3 ^д	50±6,68 ^д	27,91±6,84 ^{ср п ст}	48,47±3,09	0,787
*A/G	39,39±4,91	42,86±6,23	42,86±6,61	48,84±7,62	42,75±3,06	
*G/G	5,05±2,2 ^д	6,35±3,07 ^д	7,14±3,44 ^д	23,26±6,44 ^{ср п ст}	8,78±1,75	
*A	75,25±3,07	72,22±3,99	71,43±4,27	52,33±5,39	69,85±2	
*G	24,75±3,07	27,78±3,99	28,57±4,27	47,67±5,39	30,15±2	
PON2 (rs7493, 34610C>G, 9 экзон, 311S>C, миссенс-мутация)						
*C/C	61,05±5	53,97±6,28	58,93±6,57	67,44±7,15	60,08±3,05	0,531
*C/G	35,79±4,92	41,27±6,2	35,71±6,4	27,91±6,84	35,66±2,98	
*G/G	3,16±1,79	4,76±2,68	5,36±3,01	4,65±3,21	4,26±1,26	
*C	78,95±2,96	74,6±3,88	76,79±3,99	81,4±4,2	77,91±1,83	
*G	21,05±2,96	25,4±3,88	23,21±3,99	18,6±4,2	22,09±1,83	

Примечание. p — частота; s_p — ошибка частоты; P_{χ^2} — соответствие эмпирически полученного распределения частоты генотипов теоретически ожидаемому по уравнению Харди—Вайнберга в группе лиц среднего возраста; индексом обозначены возрастные группы, различия между которыми статистически значимы.

и rs1002149*GSR проводили методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием комплементарных полиморфному

участку ДНК флюоресцентных TaqMan-зондов в соответствии с протоколом фирмы-изготовителя («ДНК-синтез», <http://www.oligos.ru/>).

Соответствие наблюдаемых частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди—Вайнберга в группе лиц среднего возраста проверяли в программе Arlequin (V.3.0). При парном сравнении частот генотипов и аллелей применяли двухсторонний тест Фишера. Возрастная динамика частот генотипов была изучена с помощью логистического регрессионного анализа (SPSS V.21.0), который позволяет оценить вероятность наступления события в зависимости от значений независимых переменных (в качестве зависимой переменной был выбран признак «наличие—отсутствие генотипа», в качестве предиктора — возраст). Возрастные интервалы для выполнения логистического регрессионного анализа определяли с использованием ROC-анализа (SPSS V.21.0). Комбинации исследуемых полиморфных маркеров, ассоциированных с возрастом, идентифицировали методом Монте-Карло марковскими цепями в программе APSampler (V.3.6.1) [9]. В качестве поправки на множественность сравнений использовали FDR-коэффициент (WinPeri V.11.39).

Результаты и обсуждение

Этническая группа абхазов охарактеризована по частотам аллелей и генотипов функциональных полиморфных локусов генов АОС. Молекулярно-генетический анализ выполнен на выборке широкого возрастного диапазона — от 21 года до 107 лет; частоты аллелей и генотипов изученных ДНК-маркеров рассчитаны в соответствии с принятой возрастной градацией и приведены в табл. 1. Распределение частоты генотипов в группе лиц среднего возраста соответствует равновесному распределению Харди—Вайнберга по всем анализируемым локусам. Спектр установленных в популяции абхазов частот аллелей и генотипов схож с таковым у лиц европеоидного происхождения (<http://grch37.ensembl.org/index.html>, дата обращения 7.12.2020).

При попарном сравнении возрастных групп выявлены различия в частотах генотипов и аллелей по полиморфным маркерам *rs4880*SOD2*, *rs1001179*CAT*, *rs662*PON1* и *rs1695*GSTP1*. Гены *SOD2* и *CAT* кодируют ключевые антиоксидантные ферменты — СОД2 (*SOD2*, митохондриальная *Mn*-зависимая СОД) и каталазу (*CAT*). *SOD2* катализирует реакцию дисмутации супероксидных радикалов с образованием свободного кислорода и пероксида водорода; далее *CAT* разлагает пероксид водорода до кислорода и воды.

Глутатион *S*-трансфераза класса ρ (*GSTP1*) — доминирующая форма в семействе многофункциональных глутатионтрансфераз. Она участвует во второй фазе метаболизма токсичных агентов. Параоксоназа 1 (*PON1*) является ферментом гидролитической биотрансформации токсичных соединений эндогенной и экзогенной природы.

В литературе показана связь полиморфного локуса *rs4880*SOD2* с активностью *SOD2* и развитием ряда социально-значимых патологий [21, 22], при этом рисковым чаще всего является аллель *SOD2*A*. В то же время, генотип *SOD2*T/T* оказался ассоциирован с ИБС [14], аллель *SOD2*T* — с болезнью Паркинсона [15]. В нашем исследовании генотип *SOD2*T/T* встречается реже у лиц старческого возраста по сравнению с лицами пожилого возраста (19,64 % против 38,1 % соответственно, $p=0,043$).

Частота генотипа, гомозиготного по аллелю *CAT*T*, который ассоциирован с низкой активностью каталазы [10], выше у лиц пожилого возраста (20,31 %) в сравнении с лицами среднего возраста (4,04 %, $p=0,001$), однако в более старших возрастных группах его частота вновь снижается до 7,02 % у лиц старческого возраста ($p=0,039$) и до 4,65 % у долгожителей ($p=0,024$).

Полиморфный вариант *rs1695*G* гена *GSTP1* ассоциирован с низким уровнем активности фермента *GSTP1* [13] и риском развития сложно-наследуемых заболеваний [3]. Обнаружены достоверные различия по частоте генотипа *GSTP1*G/G* между лицами старческого возраста и долгожителями, с одной стороны (32,14 и 32,56 % соответственно), и лицами среднего и пожилого возраста — с другой (10,1 и 14,06 % соответственно), $p<0,05$. Частота гетерозиготного генотипа данного локуса в группе лиц старческого возраста ниже, чем в группе лиц среднего возраста (28,57 % против 45,45 %, $p=0,042$). У долгожителей статистически значимо снижена частота генотипа *GSTP1*A/A* в сравнении с таковой в группе лиц среднего возраста (25,58 и 44,44 % соответственно, $p=0,039$).

В нашем исследовании группа лиц, достигших долголетия, значительно отличается от всех других возрастных групп по частотам аллелей и гомозиготных генотипов полиморфного локуса *rs662*PON1*. Аллель *PON1*G* и генотип *PON1*G/G* у долгожителей встречается достоверно чаще (47,67 и 23,26 % соответственно) в сравнении с группами лиц среднего (24,75 и 5,05 % соответственно), пожилого (27,78 и 6,35 % соответственно)

и старческого (28,57 и 7,14 % соответственно) возраста. Ранее в исследовании [8] было показано, что аллель *PON1*G* ассоциирован с более высокой активностью *PON1* при экспозиции к параксону. В группе долгожителей аллель *PON1*A* и генотип *PON1*A/A* обнаруживаются, напротив, с меньшей частотой ($p < 0,05$). В ряде исследований продемонстрирована ассоциация аллеля *PON1*A* и генотипа *PON1*A/A* с низкой активностью фермента и повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний [6, 20].

Таким образом, возрастные особенности распространения аллелей и генотипов по функциональным полиморфным локусам ключевых генов АОС указывают на то, что физиологический фон, характерный для разных стадий онтогенеза, может по-разному влиять на эффективность работы генов, участвующих в редокс-гомеостазе.

ROC-анализ данных с последующим построением логистических моделей позволил установить возрастные диапазоны, в пределах которых изменяется частота генотипов (табл. 2). Эти изменения характерны для локусов, по которым выявлены описанные выше различия в частотах генотипов и аллелей при попарном сравнении возрастных групп. Для генов *GSTP1* и *PON1* характерно изменение шансов наблюдения генотипов на протяжении всего изучаемого возрастного континуума. С возрастом увеличивается вероятность обнаружения генотипа *GSTP1*G/G* ($OR=1,028$, $p=0,001$, $AUC=0,661$) и снижаются шансы выявления генотипа *GSTP1*A/A* ($OR=0,985$, $p=0,01$). Шансы обнаружения генотипа *PON1*A/A* снижаются ($OR=0,983$, $p=0,005$), генотипа *PON1*G/G* — возрастают ($OR=1,033$, $p=0,007$, $AUC=0,686$) в возрастном диапазоне 21–107 лет. В возрасте 21–59 лет возрастает вероятность обнаружения

генотипа *CAT*T/T* ($OR=1,141$, $p=0,029$), качество логит-модели при этом находится на высоком уровне ($AUC=0,813$). У лиц пожилого возраста при достижении ими долголетия снижаются шансы выявления генотипов *CAT*T/T* (60–107 лет, $OR=0,939$, $p=0,009$) и *SOD2*T/T* (59–107 лет, $OR=0,965$, $p=0,017$).

Любой полигенный признак, в том числе и долголетие, является результатом сложного комплексного взаимодействия различных факторов, в том числе ген-генных комбинаций [11]. При этом важно учитывать как структурную особенность взаимодействующих генов — их полиморфность, так и характер их взаимного влияния. Для выявления сочетаний аллелей/генотипов, ассоциированных с возрастом, мы провели мультилокусный анализ результатов генотипирования. Общую выборку разделили на две возрастные группы — 21–59 и 60–107 лет. Основанием для такого подразделения явились результаты однолокусного и ROC-анализа. Всего выявлено семь паттернов, ассоциированных с возрастом старше 60 лет (табл. 3). При этом оказалось, что полиморфный маркер *rs1695*GSTP1* является центральным звеном, формирующим полученные сочетания. В возрасте 60 лет и старше повышена вероятность встречаемости сочетаний *GSTP1*G/G+PON1*G/G* ($OR=6,59$, $p_{FDR}=0,018$) и *GSTP1*G/G+SOD1*A* ($OR=3,4$, $p_{FDR}=0,041$). Пять сочетаний, ассоциированных с низкими шансами достижения долголетия, включает аллель *GSTP1*A* в разных комбинациях с аллелями *PON1*A*, *PON2*C* и *CAT*C* ($OR=0,3$, $p_{FDR}<0,05$).

Таким образом, из всех изученных в данной работе полиморфных локусов генов АОС наибольшую ассоциацию с возрастом показал *rs1695*GSTP1*. У долгожителей повышена доля

Таблица 2

Результаты анализа ассоциаций полиморфных ДНК-маркеров генов системы антиоксидантной защиты с возрастом методом бинарной логистической регрессии

Генотип	Возраст, лет	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>CI_{OR}</i>	<i>AUC</i>
<i>PON1*G/G</i>	21–107	0,007	1,033	1,009–1,057	0,686
<i>PON1*A/A</i>	21–107	0,005	0,983	0,972–0,995	0,395
<i>GSTP*G/G</i>	21–107	0,001	1,028	1,012–1,045	0,661
<i>GSTP*A/A</i>	21–107	0,010	0,985	0,973–0,996	0,408
<i>CAT*T/T</i>	21–59	0,029	1,141	1,014–1,285	0,813
<i>CAT*T/T</i>	60–107	0,009	0,939	0,896–0,984	0,301
<i>SOD2*T/T</i>	59–107	0,017	0,965	0,936–0,944	0,375

Примечание. *P* — уровень значимости; *OR* — показатель соотношения шансов наступления события; *CI_{OR}* — доверительный интервал показателя соотношения шансов наступления события; *AUC* (area under curve) — площадь под кривой.

носителей генотипа *GSTP1**G/G, при мультилокусном анализе данный генотип входит в оба выявленных сочетания, чаще всего встречающихся у лиц старше 60 лет. Примечательно, что глутатион S-трансфераза (*GST*) отводится одна из ключевых ролей в многочисленных клеточных редокс-зависимых процессах. Помимо основной функции детоксикации путем восстановления органических гидропероксидов до спиртов с использованием глутатиона (*GSH*) в качестве косубстрата, *GST* участвует в регуляции клеточного сигналинга посредством белок-белковых взаимодействий с киназами *JNK1*, *p38*, *ASK1*, а также является одним из координирующих факторов в работе серин/треониновой АМФ-активируемой протеинкиназы, которая контролирует энергетический баланс клетки [2]. Такая активная вовлеченность *GSTP1* во множественные клеточные процессы ставит его в ряд основных генов-кандидатов старения и долголетия.

При анализе полученных результатов обращает на себя внимание повышение частоты встречаемости у лиц старшего поколения мутантного аллеля *GSTP1**G, причем в гомозиготном состоянии, ассоциированного с низким уровнем активности фермента *GSTP1* [12]. В сочетании, показавшем наибольшую ассоциацию с преклонным возрастом, присутствует аллель *PON1**G, который соотносится с пониженной способностью предотвращать окисление ЛПНП в плазме крови [16]. Возможно, данные полиморфные ДНК-маркеры являются частью молекулярно-генетического компенсаторного механизма, отвечающего за баланс гидропероксидов, которые являются интермедиаторами ферментативного синтеза гормонов разного типа. Можно предположить, что гены АОС вовлечены в регулирование гормонального фона, определяющего благополучное протекание всех стадий онтогенеза.

Заключение

Впервые у коренного населения Абхазии установлены частоты аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов антиоксидантной системы как в целом в популяции, так и с учетом возраста. Изучение возрастных и этнических особенностей динамики частоты аллелей генов, участвующих в адаптации, необходимо для идентификации этноспецифических особенностей реализации генетической конституции индивида в условиях физиологического и патологического старения, а также для возможных рекомендаций по сохранению здоровья и продлению жизни.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Боринская С.А., Янковский Н.К. Генетика и геномика человека. Популяции и этносы в пространстве и времени: эволюционные и медицинские аспекты // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2015. Т. 17. № 4/2. С. 930–942.
2. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // Успехи биол. химии. 2014. Т. 54. С. 299–348.

Таблица 3

Сочетания аллелей/генотипов, ассоциированные с возрастом в этнической группе абхазов, полученные с помощью алгоритма *APSampler*

	Сочетание			p, %		P	P_{FDR}	OR	CI_{OR}
	<i>rs662</i> * <i>PON1</i>	<i>rs7493</i> * <i>PON2</i>	<i>rs1001179</i> * <i>CAT</i>	<i>rs1695</i> * <i>GSTP1</i>	<i>rs2070424</i> * <i>SOD1</i>				
G				GG	A	5,39·10 ⁻⁵	0,018	6,59	2,24–19,34
A		C	C	GG		3,41·10 ⁻⁴	0,041	3,40	1,66–6,99
A			C	A		1,3·10 ⁻⁵	0,029	0,30	0,17–0,53
A				A		1,97·10 ⁻⁵	0,023	0,30	0,17–0,54
				A		4,38·10 ⁻⁵	0,020	0,29	0,15–0,54
		C	C	A		6,59·10 ⁻⁵	0,019	0,32	0,17–0,57
			C	A		6,59·10 ⁻⁵	0,023	0,32	0,17–0,60

Примечание. p — частота найденных сочетаний в возрастных группах; P — уровень значимости; P_{FDR} — уровень значимости после введения поправки на множественность сравнений; OR — показатель соотношения шансов наступления события; CI_{OR} — 95 % доверительный интервал OR.

3. Кипень В.Н., Мельнов С.Б., Смолякова Р.М. Роль генов XRCC1, XRCC3 и PALB2 в генезе спорадических форм рака молочной железы // Экологическая генетика. 2015. Т. 13. № 4. С. 49–55.
4. Кузнецова С.М. Социально-средовые и генетические механизмы формирования феномена долголетия на Кавказе // Неврология и нейрохирургия (Восточная Европа). 2014. № 3. С. 83–89.
5. Хрисанфова Е.Н. Основы геронтологии (антропологические аспекты). М.: Владос, 1999.
6. Bhattacharyya T., Nicholls S.J., Topol E.J. et al. Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk // J.A.M.A. 2008. Vol. 299. № 11. P. 1265–1276. <https://doi.org/10.1001/jama.299.11.1265>
7. Blein S., Berndt S., Joshi A.D. et al. Factors associated with oxidative stress and cancer risk in the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium // Free Radical Res. 2014. Vol. 48. № 3. P. 380–386. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.875168>
8. Davies H., Richter R., Keifer M. et al. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin // Nat. Genet. 1996. Vol. 14. P. 334–336.
9. Favorov A.V., Andreevski T.V., Sudomoina M.A. et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // Genetics. 2005. Vol. 171. № 4. P. 2113–2121. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.048090>
10. Forsberg L., Lyrenas U., De Faire R., Mortgenstern A. A common functional C-T substitution in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels // Free Radical Biol. Med. 2001. Vol. 30. P. 500–505. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00487-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00487-1)
11. Govindaraju D., Atzmon G., Barzilai N. Genetics, life-style and longevity: lessons from centenarians // Appl. Translat. Genomics. 2015. Vol. 4. P. 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.atg.2015.01.001>
12. Haldar S.R., Chakrabarty A., Chowdhury S. et al. Oxidative stress-related genes in type 2 diabetes: association analysis and their clinical impact // Biochem. Genet. 2015. Vol. 53. № 4–6. P. 93–119. <https://doi.org/10.1007/s10528-015-9675-z>
13. Harries L.W., Stubbins M.J., Forman D. et al. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer // Carcinogenesis. 1997. Vol. 18. № 4. P. 641–644.
14. Jones D.A., Prior S.L., Tang T.S. et al. Association between the rs4880 superoxide dismutase 2 (C>T) gene variant and coronary heart disease in diabetes mellitus // Diabetes Res. clin. Pract. 2010. Vol. 90. № 2. P. 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2010.07.009>
15. Liu C., Fang J., Liu W. Superoxide dismutase coding of gene polymorphisms associated with susceptibility to Parkinson's disease // J. Integr. Neurosci. 2019. Vol. 18. № 3. P. 299–303. <https://doi.org/10.31083/j.jin.2019.03.127>
16. Mackness B., Mackness M., Arrol S. et al. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification // FEBS Lett. 1998. Vol. 423. P. 57–60.
17. Malik K. Human development report 2014: Sustaining human progress: Reducing vulnerabilities and building resilience. United Nations Development Programme. New York, 2014.
18. Mathew C.G. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // Methods molec. Biol. 1984. Vol. 2. P. 31–34
19. Montesanto A., Bonfigli A.R., Crocco P. et al. Genes associated with type 2 diabetes and vascular complications // Aging (Albany NY). 2018. Vol. 10. № 2. P. 178. <https://doi.org/10.18632/aging.101375>
20. Regieli J.J., Jukema J.W., Doevendans P.A. et al. Para-oxonase variants relate to 10-year risk in coronary artery disease: impact of a high-density lipoprotein-bound antioxidant in secondary prevention // J. Amer. College Cardiol. 2009. Vol. 54. № 14. P. 1238–1245. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.05.061>
21. Wu Y.R., Chang K.H., Chao C.Y. et al. Association of SOD2 p. V16A polymorphism with Parkinson's disease: A meta-analysis in Han Chinese // J. Formosan Med. Ass. 2020. Vol. 120. № 1. P. 501–507. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2020.06.023>
22. Zhang L.F., Xu K., Tang B.W. et al. Association between SOD2 V16A variant and urological cancer risk // Aging (Albany NY). 2020. Vol. 12. № 1. P. 825–843. <https://doi.org/10.18632/aging.102658>

Поступила в редакцию 20.01.2021

После доработки 30.03.2021

Принята к публикации 12.04.2021

Adv. geront. 2021. Vol. 34. № 3. P. 360–366

V.V. Erdman¹, A.Z. Matua², T.R. Nasibullin¹, I.A. Tuktarova¹, F.A. Goruhchieva²,
Kh.Z. Trapsh², S.T. Amaba², L.O. Ahuba², S.D. Smyr², K.V. Danilko³, T.V. Viltorova³

COMPLEX ASSOCIATION ANALYSIS OF ANTIOXIDANT GENES POLYMORPHIC DNA-MARKERS WITH AGE IN THE ETHNIC GROUP OF ABKHAZIANS

¹ Institute of Biochemistry and Genetics — Branch of the Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences, 71 pr. Oktyabrya, Ufa 450054, e-mail: danivera@mail.ru; ² Scientific Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences, 66 Mount Trapezia, Sukhum 384900, Abkhazia; ³ Bashkir State Medical University, 3 Lenin str., Ufa 450008

For the first time in the ethnic group of Abkhazians, the association analysis of polymorphic DNA-markers of the antioxidant genes *CAT* (rs1001179), *MSRA* (rs10098474), *GPX1* (rs1050450), *GSR* (rs1002149), *GSTP1* (rs1695), *SOD1* (rs2070424), *SOD2* (rs4880), *PON1* (rs662), *PON2* (rs7493) with age was performed. Using ROC-analysis and logistic regression, it was found that the spectrum of alleles and genotypes frequencies of *PON1* and *GSTP1* genes polymorphic markers change throughout the studied age period (21–107 years old); the distribution of allele and genotype frequencies of *CAT* and *SOD2* genes polymorphic markers changes within the age of 60 years. Multilocus genetic markers of longevity were determined by the Monte Carlo Markov chain method. Among persons in the age range 60–107 years, the frequency of observation of the patterns *GSTP1**G/G+*PON1**G ($OR=6.59$, $P_{FDR}=0.018$) and *GSTP1**G/G+*SOD1**A ($OR=3.4$, $P_{FDR}=0.041$) is statistically significantly increased; the *GSTP1**A allele in various combinations with the *PON1**A, *PON2**C and *CAT**C alleles are less common ($OR=0.3$, $P_{FDR}<0.05$).

Key words: lifespan, longevity, antioxidant genes, Abkhazians ethnic group, multilocus association analysis