

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ *SOD1*, *SOD2* И *SOD3* С ДОЛГОЛЕТИЕМ

© 2020 г. В. В. Эрдман¹, *, Т. Р. Насибуллин¹, И. А. Туктарова¹, Я. Р. Тимашева¹,
К. В. Данилко², Т. В. Викторова², **О. Е. Мустафина¹**

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук, Уфа, 450054 Россия

²Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, 450008 Россия

*e-mail: danivera@mail.ru

Поступила в редакцию 30.01.2020 г.

После доработки 14.04.2020 г.

Принята к публикации 15.04.2020 г.

Впервые проведено исследование генетических факторов долголетия в распространенных этнических группах 2511 жителей Республики Башкортостан — русских, башкир и татар. Изучены полиморфные маркеры генов ферментов антиоксидантной защиты *SOD1* (rs2070424), *SOD2* (rs4880) и *SOD3* (rs1799895). Выявлен этноспецифический характер распределения частот генотипов между группами башкир и русских (rs2070424 гена *SOD1*, $P = 0.003$), а также между татарами и группами русских и башкир (rs4880 гена *SOD2*, $P < 0.001$ и 0.035 соответственно). Обнаружены ассоциации полиморфных маркеров генов SOD с возрастом. Среди русских шансы достижения возраста долголетия выше у носителей генотипа *SOD1**A/A ($OR = 1.025$, $P = 0.001$) и ниже у носителей генотипов *SOD1**A/G ($OR = 0.975$, $P = 0.001$) и *SOD2**A/A ($OR = 0.985$, $P = 0.002$). У татар, мужчин в возрасте от 22 до 89 лет, снижается вероятность встречаемости генотипов *SOD2**A/A ($OR = 0.989$, $P = 0.029$) и *SOD2**V/V ($OR = 0.985$, $P < 0.001$) и повышается вероятность встречаемости генотипа *SOD2**A/V ($OR = 1.023$, $P < 0.001$). Анализ сочетаний генотипов и/или аллелей исследуемых полиморфных локусов выявил 12 паттернов, ассоциированных с долголетием в этнической группе татар. Аллели *SOD1**A и *SOD3**C присутствуют в большинстве комбинаций. Полиморфный маркер rs4880**SOD2* оказался определяющим для достижения долголетия: комбинации, включающие генотип *SOD2**V/V, ассоциированы с низкими ($OR \leq 0.45$, $P_{FDR} \leq 0.0003$), а сочетания с генотипом *SOD2**A/V — с высокими шансами достижения долголетия ($OR \geq 2.92$, $P_{FDR} \leq 1.24 \times 10^{-6}$).

Ключевые слова: долголетие, популяция, адаптация, гены супероксиддисмутаза, антиоксидантная защита, полиморфный маркер, анализ ассоциаций.

DOI: 10.31857/S0016675820120061

Продолжительность жизни (ПЖ) человека, характер возрастных изменений организма имеют многофакторную природу, т.е. зависят от условий окружающей среды, индивидуальной генетической предрасположенности и особенностей их взаимодействия. Существует понятие успешного старения, при котором человек способен максимально адаптироваться к функциональным возрастным изменениям своего организма [1]. Ярким примером благополучия в отношении протекания онтогенеза и успешной адаптации является долгожительство — способность отдельных индивидов достигать продолжительности жизни, превосходящей средний популяционный показатель.

За адаптацию организма к факторам окружающей среды и соответственно изменяющемуся состоянию внутренней среды отвечает целый ряд эндогенных процессов, значимое место среди кото-

рых занимает система антиоксидантной защиты (АОЗ). Известно, что активные формы кислорода (АФК) играют важную роль в сложной системе регуляции многообразных функций клетки, протекающих в физиологических условиях и при воздействии на клетку патогенных факторов. Окислительный стресс рассматривается как один из патофизиологических механизмов, принимающих участие в развитии множества возраст-ассоциированных заболеваний — атеросклероза, нарушения мозгового кровообращения, ишемической болезни сердца (ИБС), сахарного диабета второго типа (СД2Т), онкологических и нейродегенеративных патологий и т.д. [2]. С другой стороны, АФК за счет своих реакционных способностей стимулируют иммунную систему, активируют ионный транспорт, запускают апоптоз, участвуя тем самым в регуляции основных функций клет-

ки. Таким образом, АФК можно расценивать как индукторы адаптационного процесса [3]. Скорость и эффективность работы системы АОЗ в связи с этим может выступать одним из факторов, детерминирующих ПЖ и долголетие.

Важнейшими компонентами системы АОЗ являются супероксиддисмутазы (СОД, англ. SOD) — ферменты класса оксидоредуктаз, катализирующие окислительно-восстановительную реакцию, в ходе которой супероксид-анионы диспропорционируют в молекулярный кислород и пероксид водорода. В экспериментах с модельными объектами было показано, что повышенный уровень экспрессии генов ферментов АОЗ, в том числе и SOD, коррелирует с большей ПЖ [4, 5]. В генах SOD проводится поиск полиморфных маркеров возраст-ассоциированных патологий, при этом обнаруживаются ассоциации с заболеваниями, в развитии которых задействованы иммунные, воспалительные, апоптотические процессы [6]. Таким образом, полиморфные локусы, расположенные в генах SOD, могут рассматриваться как молекулярно-генетические предикторы возраст-зависимых патологий, ограничивающих ПЖ, либо как наследственные факторы долголетия.

Цель нашего исследования заключалась в анализе ассоциаций полиморфных маркеров генов *SOD1*, *SOD2* и *SOD3*, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты с долголетием в разных этнических группах жителей Республики Башкортостан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выборка включала 2511 человек в возрасте от 16 до 109 лет, жителей Республики Башкортостан (РБ), принадлежащих к этническим группам русских ($n = 490$), башкир ($n = 492$) и татар ($n = 1529$). Участники исследования были отнесены к определенному этносу в соответствии с анкетными данными, включающими сведения об этнической принадлежности предков в трех поколениях. Критерием отбора для формирования выборки выступило отсутствие в анамнезе у исследуемых лиц сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и онкологических заболеваний. Анкетирование и забор биологического материала (8 мл крови из локтевой вены) проводили на основе письменного информированного согласия обследуемых лиц на участие в исследовании.

Образцы геномной ДНК были выделены из лимфоцитов периферической венозной крови путем фенольно-хлороформного экстрагирования [7]. Аллельные варианты изучаемых полиморфных сайтов генов *SOD1* (rs2070424) и *SOD2* (rs4880) определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием аллель-специфичных праймеров. Условия проведения экспери-

мента, 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 7%-ном полиакриламидном геле, окрашивали в 1%-ном растворе этидия бромистого и визуализировали в ультрафиолетовом свете на гель-документирующей системе Mega-Bioprint 1100 (Vilber Lourmat, Франция). Идентификацию аллелей гена *SOD3* (rs1799895) проводили методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов реагентов (“Евроген”, <http://evrogen.ru>) и комплементарных полиморфному участку ДНК флуоресцентных TaqMan-зондов в соответствии с протоколом фирмы-изготовителя (“ДНК-синтез”, <http://www.oligos.ru/>).

Соответствие наблюдаемых частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди–Вайнберга и анализ популяционной гетерогенности тестировали в программе Arlequin (V.3.0). Общую выборку дифференцировали на возрастные группы в соответствии с антропометрическими, физиологическими и биохимическими особенностями онтогенеза [8]. Возрастная динамика частот генотипов была изучена с помощью логистического регрессионного анализа (SPSS V.21.0). При этом функцией уравнения бинарной логистической регрессии являлась вероятность наблюдения генотипа, а в качестве независимой переменной выступал возраст. Возрастные интервалы определяли с использованием ROC-анализа. Поиск комбинаций исследуемых полиморфных маркеров, ассоциированных с долголетием, осуществляли в программе APSampler (V.3.6.1) [9]. В качестве поправки на множественность сравнений использовался FDR-коэффициент (WinPepi V.11.39); различия считали значимыми при $P_{FDR} < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Охарактеризовано распределение частот аллелей и генотипов по полиморфному маркеру rs2070424 гена *SOD1* в популяциях жителей РБ (табл. 1). Эмпирически наблюдаемое распределение частот генотипов во всех этнических группах соответствовало теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди–Вайнберга ($P > 0.05$). По частотам генотипов и аллелей выборки мужчин и женщин также не отличались между собой.

Обнаружены межэтнические различия в соотношении частот аллелей и генотипов (табл. 2). Согласно результатам проведенного нами исследования, этническая группа башкир отличается от этнической группы русских ($P = 0.003$) и на уровне тенденции — от группы татар ($P = 0.061$).

Также в данной группе наблюдается повышение частоты генотипа *SOD1**G/G при уровне значимости *P*, равном 0.006, в сравнении с русскими и *P*, равном 0.044, в сравнении с татарами.

С помощью логистического регрессионного анализа мы установили, что в возрастном диапазоне от 36 до 98 лет среди русских возрастают шансы обнаружения генотипа *SOD1**A/A (*OR* = 1.025, *P* = 0.001) и снижаются шансы обнаружения генотипа *SOD1**A/G (*OR* = 0.975, *P* = 0.001) (табл. 3).

Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу rs4880 гена *SOD2* в трех этнических группах жителей РБ (табл. 1). Эмпирически наблюдаемое распределение частот генотипов соответствует теоретически ожидаемому равновесному распределению (*P* > 0.05). По распределению частот генотипов этническая группа татар отличается от русских (*P* < 0.001) и башкир (*P* = 0.035) (табл. 2). В целом русские, татары и башкиры по распределению частот генотипов полиморфного локуса rs4880 гена *SOD2* не отличаются от представителей европейских популяций (<http://grch37.ensembl.org/>).

Согласно анализу данных с использованием бинарной логистической регрессии (табл. 3), в недифференцированной на мужчин и женщин выборке этнических русских шансы обнаружения генотипа *SOD2**A/A на протяжении всего возрастного континуума (от 16 до 98 лет) снижаются (*OR* = 0.985, *P* = 0.002). Мы выявили, что изменения в частотах происходят на рубеже 60 лет: между группами 16–60 лет и 61–98 лет меняется частота аллеля *SOD2**A (49.59 и 40.41% соответственно, *P* = 0.005, *P_{FDR}* = 0.012) и генотипа *SOD2**A/A (22.73 и 11.02% соответственно, *P* = 0.0007, *P_{FDR}* = 0.008).

Среди этнических татар обнаружили межполювые различия в распределении частот генотипов (*P* = 0.001) за счет существенного снижения частоты гетерозиготного генотипа у мужчин – 42.45% против 51.91% у женщин (*P* = 0.00015). При дальнейшем анализе возраст-зависимого изменения частот генотипов и аллелей по данному локусу с учетом пола было установлено снижение частоты гомозиготных генотипов *SOD2**A/A (*OR* = 0.989, *P* = 0.029) и *SOD2**V/V (*OR* = 0.985, *P* < 0.001) и повышение частоты генотипа *SOD2**A/V (*OR* = 1.023, *P* < 0.001) на протяжении 22–89 лет среди мужчин татар. В выборке женщин не обнаружено статистически значимых возраст-зависимых различий по частотам аллелей и генотипов.

Согласно результатам проведенного исследования полиморфного маркера rs1799895 гена *SOD3*, распределение частот аллелей и генотипов во всех трех этнических группах не отличалось от соответствующего закону Харди–Вайнберга нормального распределения (табл. 1). Этнические выбор-

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов (%) по полиморфным маркерам генов супероксиддисмута в трех этнических группах

Аллель/генотип	Этническая группа		
	русские	татары	башкиры
rs2070424* <i>SOD1</i>			
*A	92.35	91.27	88.82
*G	7.65	8.73	11.18
*A/A	84.9	83.33	79.88
*A/G	14.9	15.87	17.89
*G/G	0.2	0.8	2.24
rs4880* <i>SOD2</i>			
*A	44.97	43.23	44.79
*V	55.03	56.77	55.21
*A/A	16.84	19.56	18.20
*A/V	56.26	47.35	53.17
*V/V	26.90	33.09	28.63
rs1799895* <i>SOD3</i>			
*C	98.46	98.51	98.25
*G	1.54	1.49	1.75
*C/C	96.93	97.02	96.51
*C/G	3.07	2.98	3.49
*G/G	0.00	0.00	0.00

Таблица 2. Анализ гетерогенности этнических групп по распределению частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов супероксиддисмута

Этническая группа	Русские	Башкиры	Татары
rs2070424* <i>SOD1</i>			
Русские	–	0.009	0.349
Башкиры	0.003	–	0.042
Татары	0.226	0.061	–
rs4880* <i>SOD2</i>			
Русские	–	0.963	0.354
Башкиры	0.388	–	0.395
Татары	<0.001	0.035	–
rs1799895* <i>SOD3</i>			
Русские	–	0.726	1.000
Башкиры	0.578	–	0.629
Татары	1.000	0.545	–

Примечание. Степень гетерогенности представлена в показателях *P* – значения точного теста Фишера; *P*, размещенные под диагональю, получены при сравнении частот генотипов; размещенные над диагональю, – при сопоставлении частот аллелей.

Таблица 3. Ассоциации полиморфных маркеров генов супероксиддисмутаза с возрастом, полученные с помощью метода логистической регрессии

Генотип	Этническая группа	Возрастной диапазон	AUC	<i>P</i>	OR	CI _{OR}
Выборка, недифференцированная по полу						
<i>SOD1</i> *A/A	Русские	36–98	0.371	0.001	1.025	1.010–1.041
<i>SOD1</i> *A/G			0.631	0.001	0.975	0.960–0.990
<i>SOD2</i> *A/A		16–98	0.406	0.002	0.985	0.976–0.995
Мужчины						
<i>SOD2</i> *A/A	Татары	22–89	0.428	0.029	0.989	0.980–0.999
<i>SOD2</i> *V/V			0.414	<0.001	0.985	0.977–0.993
<i>SOD2</i> *A/V			0.631	<0.001	1.023	1.015–1.032

Примечание. AUC – area under ROC curve (площадь под ROC-кривой), *P* – уровень значимости, OR – показатель соотношения шансов наступления события, CI_{OR} – 95%-ный доверительный интервал OR.

ки жителей РБ оказались схожи как между собой (табл. 2), так и с другими популяциями Европы (<http://grch37.ensembl.org/>).

По данному полиморфному локусу не было выявлено статистически значимого возраст-зависимого изменения в частотах аллелей и генотипов ни в одной из проанализированных этнических групп.

С помощью алгоритма APSampler выявлено 12 сочетаний генотипов и аллелей, ассоциированных с долголетием в этнической группе татар (табл. 4). Закономерными элементами выявленных комбинаций являются аллель *SOD1**A и *SOD3**C. *SOD1**A/A входит в состав комбинации, ассоциированной с повышенной вероятностью достижения долголетия (OR = 1.91, *P* = 0.0026, *P*_{FDR} = 0.009), *SOD3**C/C включен в сочетание, связанное с пониженными шансами на долгожительство (OR = 0.4, *P* = 2.05×10^{-5} , *P*_{FDR} = 0.0002). Полиморфный маркер rs4880**SOD2* вносит преимущественный вклад в формирование различных комбинаций, а его аллельное состояние, по-видимому, является определяющим для достижения долголетия. Так, все четыре комбинации, ассоциированные с низкими шансами достижения долголетия, включают аллель *SOD2**V в гомозиготном состоянии. Самые высокие показатели OR с наименьшей вероятностью ошибки первого рода показали сочетания, включающие генотип *SOD2**A/V (OR ≥ 2.92, *P* ≤ 5.65×10^{-8} , *P*_{FDR} ≤ 1.24×10^{-6}).

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые в распространенных популяциях жителей РБ проведено исследование генетических факторов долголетия. Достижение возраста, превышающего средний популяционный показатель, мы позиционируем как пример успешной адаптации организма. Одним из проявлений адаптации организма к действию повреждающих факторов внешней среды считается активация окислительных процессов. Группа ферментов SOD выступает первым звеном в цепи реакций превращения АФК.

Проводятся исследования роли ферментов SOD в патогенезе различных заболеваний, а также старческих процессов. Подавляющее число работ свидетельствует о снижении супероксидазной активности при сопровождающихся развитием окислительного стресса патологиях [2, 6]. Участие SOD в детерминации ПЖ и долголетия изучается, в частности, на модельных объектах, что позволяет расширить представления о характере влияния данного фермента на структуры клеток различных тканей. Показано, что сверхэкспрессия ферментов SOD2 и SOD1 способствует увеличению выживаемости клеток дрожжей на 30% [10]. Повышенная экспрессия гена *SOD2* приводила к уменьшению содержания АФК в митохондриях нейронов гиппокампа и увеличивала ПЖ у мышей [11]. Обнаружена связь изменения активности SOD2, особенностей питания, риска развития СД2Т и ПЖ у крыс [12]. Увеличение ПЖ и улучшение жизненных показателей у нематод было ассоциировано с повышенной экспрессией гена *SOD3* [13].

Таблица 4. Сочетания аллелей/генотипов, ассоциированные с долголетием в этнической группе татар, полученные с помощью алгоритма APSampler

Сочетания			<i>p</i> , %		<i>P</i>	<i>P</i> _{FDR}	OR	CI _{OR}
rs2070424* <i>SOD1</i>	rs4880* <i>SOD2</i>	rs1799895* <i>SOD3</i>	долгожители (90–109 лет)	юношеский и средний возраст (16–60 лет)				
A	A/V	C	55.73	23.71	2.23×10^{-10}	1.47×10^{-8}	4.05	2.59–6.33
	A/V	C	54.44	23.62	5.11×10^{-10}	1.69×10^{-8}	3.87	2.49–5.99
A	A/V		54.01	28.68	5.65×10^{-8}	1.24×10^{-6}	2.92	1.97–4.33
A	A	C	71.84	50.52	2.09×10^{-5}	0.0002	2.50	1.62–3.86
	A	C	70.95	50.25	4.03×10^{-5}	0.0003	2.37	1.62–3.86
A	A		71.12	52.36	4.24×10^{-5}	0.0003	2.24	1.51–3.35
A	V	C	83.33	72.17	0.007	0.023	1.93	1.16–3.20
A/A	V	C	73.56	52.28	0.0026	0.009	1.91	1.23–2.97
	V/V	C/C	27.78	48.74	2.05×10^{-5}	0.0002	0.40	0.26–0.62
A	V/V	C	27.59	48.45	2.88×10^{-5}	0.0002	0.41	0.26–0.63
	V/V	C	29.61	49.75	4.03×10^{-5}	0.0003	0.42	0.28–0.64
A	V/V		28.34	46.90	4.94×10^{-5}	0.0003	0.45	0.30–0.67

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%-ный доверительный интервал OR.

В гене *SOD1* (21q22.1) идентифицировано более трех тысяч полиморфных сайтов. Для некоторых из них найдены ассоциации с многофакторными заболеваниями: сердечно-сосудистыми, нейродегенеративными, онкологическими, болезнями обмена веществ [14–18].

Полиморфный маркер rs2070424, обусловленный заменой аденина на гуанин (251A>G), локализован в 3-м интроне гена *SOD1*. Хотя функциональная роль полиморфного варианта 251A>G гена *SOD1* окончательно не выявлена, была найдена ассоциация редкого аллеля *SOD1**G с повышенным уровнем экспрессии гена [19]. Для частот аллелей и генотипов данного полиморфного сайта показана межэтническая и межрасовая вариабельность, с ярко выраженным градиентом повышения частоты редкого аллеля *SOD1**G с севера на юг и особенно с запада на восток (<http://grch37.ensembl.org/>). У жителей РБ частоты генотипов по полиморфному маркеру rs2070424 гена *SOD1* варьируют в пределах значений, установленных для жителей Европы. В то же время вероятность встречаемости аллеля *SOD1**G и генотипа *SOD1**G/G возрастает в ряду

“русские–татары–башкиры”. Обнаруженные межэтнические различия в частотах аллелей и генотипов можно объяснить вероятным присутствием большей доли азиатского компонента в этнической группе башкир. Высокая частота редкого аллеля *SOD1**G у представителей южных и азиатских регионов планеты согласуется с результатами исследования активности фермента – в условиях высокого уровня инсоляции и фонового риска вирусных и паразитарных инфекций усиленная активность ферментов АОЗ является адаптационно выгодной [19].

По полиморфному маркеру rs2070424 гена *SOD1* не было обнаружено статистической значимости для долголетия среди лиц европейского происхождения – датчан [20] и немцев [21]. В то же время показаны ассоциации аллелей *SOD1**A и *SOD1**G с рядом заболеваний, в том числе онкологических и патологий обмена веществ [16–18, 22]. В исследованных нами трех этнических группах жителей РБ наблюдается повышение среди долгожителей частоты протективного в отношении ряда возраст-зависимых заболеваний геноти-

па *SOD1**A/A. По результатам анализа сочетаний аллелей и/или генотипов с применением алгоритма APSampler аллель *SOD1**A чаще встречается в паттернах, ассоциированных с повышением шанса достижения долголетия, причем в одном из них он представлен в гомозиготном состоянии.

Согласно базе данных <https://www.genecards.org/>, ген *SOD2* (6q25.3) имеет более 24 тыс. полиморфных вариантов. Результатом одной из миссенс-мутаций гена является замена валина на аланин в 16-м звене белковой цепочки *SOD2* (16V>A, rs4880). Изменяя вторичную структуру сигнального пептида и тем самым дестабилизируя его альфа-спиральный участок, данный полиморфизм влияет на скорость переноса фермента из цитоплазмы в митохондрии, что может приводить к абсолютному или относительному локальному дефициту фермента [23]. Показано, что активность *SOD2* была на 40% выше у носителей аллеля *SOD2**A [24].

Различные варианты генотипов по полиморфному маркеру rs4880 гена *SOD2* могут быть ассоциированы с онкологическими заболеваниями, но, по данным разных исследований, в сочетании с теми или иными факторами среды [25]. Генотип *SOD2**V/V ассоциирован с ИБС у женщин [26], а аллель *SOD2**V — с болезнью Паркинсона [27]. Показано защитное действие аллеля *SOD2**A в отношении риска развития СД2Т и его осложнений [28]. С другой стороны, в более ранних исследованиях аллель *SOD2**A был ассоциирован с рядом нейродегенеративных заболеваний [29, 30]. Также генотип *SOD2**A/A был определен как генетический маркер преждевременного старения мозга у здоровых индивидов [31].

В литературе представлены сведения о снижении уровня активности фермента *SOD2* у долгожителей (100–105 лет) по сравнению с лицами в возрасте от 60 до 79 лет [32]. Не было выявлено ассоциаций с долголетием полиморфного маркера rs4880 гена *SOD2* у жителей Италии [33] и среди немцев [21]. Однако в недавнем исследовании [34] продемонстрировано повышение экспрессии гена *SOD2* в натуральных киллерах (NK-клетках) у лиц старше 80 лет. Это позволило авторам сделать вывод о роли данного фермента в гомеостазе NK-клеток, что важно для здорового старения. Среди носителей аллеля *SOD2**A смертность после 90 лет была ниже [35]. Также среди женщин Дании установлена ассоциация полиморфного маркера rs4880 гена *SOD2* с выживаемостью [20].

Противоречивость результатов исследований взаимосвязи структурной и функциональной особенности *SOD2* и кодирующего данный фермент гена с возраст-ассоциированными заболеваниями, ПЖ и долголетием отражается и в настоящей работе. Полиморфный маркер rs4880 гена *SOD2* ассоциирован с ПЖ у русских и татар, причем в

обеих этнических группах происходит снижение частоты гомозиготных генотипов с возрастом. При этом анализ сочетаний аллелей и генотипов показал, что со снижением шансов достижения долголетия в этнической группе татар ассоциирован генотип *SOD2**V/V. Предполагается, что белок, кодируемый данным аллельным вариантом гена, гораздо медленнее импортируется в митохондрии и поэтому с большей вероятностью подвергается протеасомному расщеплению в клетке; кроме того, он может быть связан со сниженной стабильностью мРНК [24]. Включение гетерозиготного генотипа *SOD2**A/V в паттерны, ассоциированные с наибольшими показателями шансов достижения возраста долголетия, вероятно происходит за счет аллеля *SOD2**A, который также входит в состав комбинаций, положительно коррелирующих с долголетием (табл. 4). Таким образом, закономерно, что именно аллель *SOD2**A, реализующий вариант фермента с высокой эффективностью в отношении защиты клетки от АФК, по нашим данным, ассоциирован с долголетием у татар.

Ген *SOD3* (4p15.3-p15.1) кодирует внеклеточную форму SOD, содержание которой в большинстве тканей очень небольшое. Однако ткани, непосредственно контактирующие с атмосферным кислородом, растворенным в крови (легкие, кровеносные сосуды, сердце), отличаются повышенной концентрацией данного фермента. В сосудистой системе *SOD3* закрепляется за гепарансульфат-протеоглики эпителия. Полиморфный маркер rs1799895 обусловлен трансверсией в 691-м положении (C>G) экзона 3. Он приводит к изменению в структуре гепарин-связывающего домена белка (231R>G), вследствие чего нарушается способность фермента прикрепляться к внешней поверхности эндотелиальных клеток. Таким образом, не меняя транскрипционной активности гена, мутация в данном полиморфном локусе вызывает многократное (примерно в 10 раз) повышение концентрации *SOD3* в плазме и соответственно снижение активности фермента в тканях [36].

Частота встречаемости мутантного аллеля *SOD3**G полиморфного маркера rs1799895 в популяциях мира низка (MAF (minor allele frequency — частота минорного аллеля) составляет 0.02) (<http://grch37.ensembl.org/>). Распределение частот генотипов по данному полиморфному варианту в исследуемых нами этнических группах оказалось сходным с таковым у европейцев.

В доступной для анализа литературе нам не удалось обнаружить работ по изучению ассоциаций полиморфного маркера rs1799895 гена *SOD3* с долголетием. Однако результаты ассоциативных исследований возраст-зависимых заболеваний свидетельствуют о вкладе мутантного аллеля ДНК-маркера rs1799895 в формирование ряда патологий, развивающихся с возрастом. Среди па-

циентов с диабетом, которые были носителями гетерозиготного генотипа, повышен риск сердечно-сосудистой недостаточности [37]. Гомозиготное носительство редкого аллеля *SOD3*G* ассоциировано с повышенным риском ИБС, ишемического инсульта, некоторыми формами рака и в целом со смертностью [38]. По нашим данным, генотип *SOD3*C/C* в сочетании с генотипом *SOD2*V/V* оказался ассоциирован с пониженными шансами достижения долголетия среди татар.

Таким образом, в данном исследовании трех этнических групп населения РБ мы выявили этноспецифический характер представленности частот аллелей и генотипов по генам ферментов АОЗ, отвечающих за адаптационные возможности организма. Установлена ассоциация полиморфных маркеров rs2070424**SOD1* и rs4880**SOD2* с долголетием. Это может свидетельствовать об участии генов ферментов, отвечающих за метаболизм АФК, в старении, развитии сопутствующих ему возраст-ассоциированных заболеваний и формировании фенотипа долгожителя.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ и АНА (грант № 19-54-40007) и НИР (№ государственной регистрации АААА-А16-116020350032-1); 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).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ильницкий А.Н., Прощаев К.И., Матейовска-Кубешиова Х. и др. Возрастная жизнеспособность в геронтологии и гериатрии (обзор) // Науч. результаты биомед. исследований. 2019. Т. 5. № 4. С. 102–116. <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-8>
2. Волыхина В.Е., Шафрановская Е.В. Супероксиддисмутазы: структура и свойства // Вестник Витебского гос. мед. ун-та. 2009. Т. 8. № 4. С. 1–18.
3. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2014. Т. 12. № 4. С. 13–21.
4. Orr W.C., Sohal R.S. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster* // Science. 1994. V. 263. № 5150. P. 1128–1130. <https://doi.org/10.1126/science.8108730>
5. Parkes T.L., Elia A.J., Dickinson D. et al. Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons // Nat. Genet. 1998. V. 19. № 2. P. 171–174.
6. Lewandowski Ł., Kepinska M., Milnerowicz H. The copper-zinc superoxide dismutase activity in selected diseases // Eur. J. Clin. Investigation. 2019. V. 49. № 1. P. e13036. <https://doi.org/10.1111/eci.13036>
7. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // Methods in Molecular Biology / Ed. Walker J.M. N.Y.: Haman Press, 1984. P. 31–34.
8. Хрисанфова Е.Н. Основы геронтологии (Антропологические аспекты). М.: Владос, 1999. 151 с.
9. Favorov A.V., Andreewski 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. V. 171. № 4. P. 2113–2121. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.048090>
10. Fabrizio P., Liou L.L., Moy V.N. et al. SOD2 functions downstream of Sch9 to extend longevity in yeast // Genetics. 2003. V. 163. № 1. P. 35–46.
11. Hu D., Cao P., Thiels E. et al. Hippocampal long-term potentiation, memory, and longevity in mice that overexpress mitochondrial superoxide dismutase // Neurobiol. Learning and Memory. 2007. V. 87. № 3. P. 372–384. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.10.003>
12. Potukuchi A., Addepally U., Sindhu K., Manchala R. Increased total DNA damage and oxidative stress in brain are associated with decreased longevity in high sucrose diet fed WNIN/Gr-Ob obese rats // Nutritional Neurosci. 2018. V. 21. № 9. P. 648–656. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1332509>
13. Lin C., Zhang X., Xiao J. et al. Effects on longevity extension and mechanism of action of carnosic acid in *Caenorhabditis elegans* // Food & Function. 2019. V. 10. № 3. P. 1398–1410. <https://doi.org/10.1039/C8FO02371A>
14. Otaki Y., Watanabe T., Nishiyama S. et al. The impact of superoxide Dismutase-1 genetic variation on cardiovascular and all-cause mortality in a prospective cohort study: the Yamagata (Takahata) study // PLoS One. 2016. V. 11. № 10. P. e0164732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164732>
15. Spisak K., Klimkowicz-Mrowiec A., Pera J. et al. rs2070424 of the SOD1 gene is associated with risk of Alzheimer's disease // Neurologia i Neurochirurgia Polska. 2014. V. 48. № 5. P. 342–345. <https://doi.org/10.1016/j.pjnns.2014.09.002>
16. El-Kheshen G., Moeini M., Saadat M. Susceptibility to ulcerative colitis and genetic polymorphisms of A251G SOD1 and C-262T CAT // J. Med. Biochemistry. 2016. V. 35. № 3. P. 333–336. <https://doi.org/10.1515/jomb-2016-0002>
17. 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. V. 53. № 4–6. P. 93–119.
<https://doi.org/10.1007/s10528-015-9675-z>
18. *Hernández-Guerrero C., Hernández-Chávez P., Romo-Palafox I. et al.* Genetic polymorphisms in SOD (rs2070424, rs7880) and CAT (rs7943316, rs1001179) enzymes are associated with increased body fat percentage and visceral fat in an obese population from Central Mexico // *Archives Med. Research.* 2016. V. 47. № 5. P. 331–339.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.08.007>
 19. *Kase B.A., Northrup H., Morrison A.C. et al.* Association of copper-zinc superoxide dismutase (SOD1) and manganese superoxide dismutase (SOD2) genes with nonsyndromic myelomeningocele // *Birth Defects Research Part A: Clin. and Mol. Teratology.* 2012. V. 94. № 10. P. 762–769.
<https://doi.org/10.1002/bdra.23065>
 20. *Dato S., Sørensen M., Lagani V. et al.* Contribution of genetic polymorphisms on functional status at very old age: a gene-based analysis of 38 genes (311 SNPs) in the oxidative stress pathway // *Exp. Gerontol.* 2014. V. 52. P. 23–29.
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.01.014>
 21. *Gentschew L., Flachsbarth F., Kleindorp R. et al.* Polymorphisms in the superoxidase dismutase genes reveal no association with human longevity in Germans: a case-control association study // *Biogerontology.* 2013. V. 14. № 6. P. 719–727.
<https://doi.org/10.1007/s10522-013-9470-3>
 22. *Ebrahimpour S., Saadat I.* Association of CAT C-262T and SOD1 A251G single nucleotide polymorphisms susceptible to gastric cancer // *Mol. Biol. Research Communications.* 2014. V. 3. № 4. P. 223–229.
 23. *Колесникова Л., Баурова Т.А., Первушина О.А.* Гены ферментов антиоксидантной системы // *Вестник Рос. акад. мед. наук.* 2013. Т. 68. № 12. С. 83–88
 24. *Sutton A., Imbert A., Igoudjil A. et al.* The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability // *Pharmacogenetics and Genomics.* 2005. V. 15. № 5. P. 311–319.
 25. *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. V. 48. № 3. P. 380–386.
<https://doi.org/10.3109/10715762.2013.875168>
 26. *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. and Clin. Practice.* 2010. V. 90. № 2. P. 196–201.
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2010.07.009>
 27. *Liu C., Fang J., Liu W.* Superoxide dismutase coding of gene polymorphisms associated with susceptibility to Parkinson's disease // *J. Integrative Neurosci.* 2019. V. 18. № 3. P. 299–303.
<https://doi.org/10.31083/j.jin.2019.03.127>
 28. *Tian C., Fang S., Du X., Jia C.* Association of the C47T polymorphism in SOD2 with diabetes mellitus and diabetic microvascular complications: a meta-analysis // *Diabetologia.* 2011. V. 54. № 4. P. 803–811.
<https://doi.org/10.1007/s00125-010-2004-5>
 29. *Wiener H.W., Perry R.T., Chen Z. et al.* A polymorphism in SOD2 is associated with development of Alzheimer's disease // *Genes Brain Behav.* 2007. V. 6. № 8. P. 770–776.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00308.x>
 30. *Shimoda-Matsubayashi S., Matsumine H., Kobayashi T. et al.* Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene: a predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996. V. 226. № 2. P. 561–565.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.1394>
 31. *Salminen L.E., Schofield P.R., Pierce K.D. et al.* Vulnerability of white matter tracts and cognition to the SOD2 polymorphism: A preliminary study of antioxidant defense genes in brain aging // *Behavioural Brain Res.* 2017. V. 329. P. 111–119.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.04.041>
 32. *Andersen H.R., Jeune B., Nybo H. et al.* Low activity of superoxide dismutase and high activity of glutathione reductase in erythrocytes from centenarians // *Age and Ageing.* 1998. V. 27. № 5. P. 643–648.
<https://doi.org/10.1093/ageing/27.5.643>
 33. *De Benedictis G., Carotenuto L., Carrieri G. et al.* Gene/longevity association studies at four autosomal loci (REN, THO, PARP, SOD2) // *Eur. J. Hum. Genet.* 1998. V. 6. № 6. P. 534–541.
 34. *Kaszubowska L., Foerster J., Kaczor J.J. et al.* Expression of cellular protective proteins SIRT1, HSP70 and SOD2 correlates with age and is significantly higher in NK cells of the oldest seniors // *Immunity & Ageing.* 2017. V. 14. № 1. P. 3–16.
<https://doi.org/10.1186/s12979-017-0085-4>
 35. *Soerensen M., Christensen K., Stevnsner T., Christiansen L.* The Mn-superoxide dismutase single nucleotide polymorphism rs4880 and the glutathione peroxidase 1 single nucleotide polymorphism rs1050450 are associated with aging and longevity in the oldest old // *Mechanisms Ageing and Development.* 2009. V. 130. № 5. P. 308–314.
<https://doi.org/10.1016/j.mad.2009.01.005>
 36. *Sandström J., Nilsson P., Karlsson K., Marklund S.L.* 10-Fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain // *J. Biol. Chemistry.* 1994. V. 269. № 29. P. 19163–19166.
 37. *Kobylecki C.J., Afzal S., Nordestgaard B.G.* Genetically low antioxidant protection and risk of cardiovascular disease and heart failure in diabetic subjects // *EBio-Medicine.* 2015. V. 2. № 12. P. 2010–2015.
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.11.026>
 38. *Kobylecki C.J., Afzal S., Nordestgaard B.G.* Does SOD3 R213G homozygosity influence morbidity, mortality, and lung function in the general population? // *Antioxidants and Redox Signaling.* 2016. V. 24. № 15. P. 884–891.
<https://doi.org/10.1089/ars.2016.6629>

The Study of Association of the *SOD1*, *SOD2* and *SOD3* Genes Polymorphic Markers with Longevity

V. V. Erdman^{a, *}, T. R. Nasibullin^a, I. A. Tuktarova^a, Y. R. Timasheva^a,
K. V. Danilko^b, T. V. Viktorova^b, and O. E. Mustafina^a

^aInstitute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia

^bBashkir State Medical University, Ufa, 450008 Russia

*e-mail: danivera@mail.ru

For the first time, a study of genetic factors of longevity was conducted in the prevalent populations of 2511 residents of the Republic of Bashkortostan – Russians, Bashkirs and Tatars. We investigated the polymorphic markers in genes of the antioxidant defense enzymes – *SOD1* (rs2070424), *SOD2* (rs4880) and *SOD3* (rs1799895) was studied. We detected the ethnospecific patterns of the genotype frequencies distribution between Bashkir and Russian groups (rs2070424 of the *SOD1* gene, $P = 0.003$), as well as between Tatars and the groups of Russians and Bashkirs (rs4880 of the *SOD2* gene, $P = 0.001$ and 0.035 , respectively). We found associations of the polymorphic markers in SOD family genes with age. Among Russians the chances to attain longevity were higher in the *SOD1**A/A genotype carriers ($OR = 1.025$, $P = 0.001$) and lower in those with *SOD1**A/G and *SOD2**A/A genotypes ($OR = 0.975$, $P = 0.001$ and $OR = 0.985$, $P = 0.002$, respectively). Among Tatars, we observed the decrease of *SOD2**A/A and *SOD2**V/V genotypes frequencies ($OR = 0.989$, $P = 0.029$ and $OR = 0.985$, $P = 0.001$ respectively) and increase of *SOD2**A/V genotype frequency ($OR = 1.023$, $P = 0.001$) in men aged between 22 to 89. The analysis of genotype and/or allelic combinations of the studied polymorphic loci revealed 12 patterns associated with longevity among Tatars. *SOD1**A and *SOD3**C alleles were present in most of the identified combinations. The *SOD2* rs4880 polymorphic marker was indicative of longevity: combinations including *SOD2**V/V genotype were associated with lower ($OR \leq 0.45$, $P_{FDR} \leq 0.0003$), and combinations including *SOD2**A/V genotype were associated with higher chances of achieving longevity ($OR \geq 2.92$, $P_{FDR} \leq 1.24 \times 10^{-6}$).

Keywords: human longevity, population, adaptation, superoxide dismutase genes, antioxidant defense, polymorphic marker, association analysis.