

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP2D6*, ВЕРОЯТНЫХ МАРКЕРОВ РИСКА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, В ПОПУЛЯЦИЯХ КОРЕННЫХ ЭТНОСОВ И РУССКИХ СЕВЕРНОЙ СИБИРИ

Р.П. Корчагина¹, Л.П. Осипова¹, Н.А. Вавилова¹,
Н.А. Ермоленко², Е.Н. Воронина², М.Л. Филипенко²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия,
e-mail: kruosana@mail.ru, ludos@bionet.nsc.ru, senk_off@mail.ru;

² Учреждение РАН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия, e-mail: kostrykina@gmail.com, voronina_1@mail.ru, max@niboch.nsc.ru

Гены биотрансформации ксенобиотиков *CYP2D6*, *GSTM1* и *GSTT1* вовлечены в процессы канцерогенеза у человека из-за наличия мутантных вариантов, снижающих или блокирующих экспрессию генов. С середины XX в. онкологические заболевания демонстрируют повсеместный рост в популяциях человека, в том числе и у коренных этносов Сибири. Проблема этнических различий в чувствительности к онкозаболеваниям по-прежнему остается актуальной. Впервые проведено исследование полиморфизма генов *CYP2D6* (аллели *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*), *GSTM1* и *GSTT1* («нулевые» генотипы *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0*), рассматриваемых в качестве генетических маркеров риска онкологических заболеваний, у практически здоровых этнических представителей самодийских этносов (селькупов, лесных ненцев, нганасан) и русских, живущих в Сибири. Исследование выявило существенную вариабельность частот распределения *CYP2D6*4* и *GSTM1 0/0* в северных популяциях. В то же время частоты вариантов *CYP2D6*3* и *GSTT1 0/0* достоверно не различаются между собой в коренных популяциях селькупов, лесных ненцев и нганасан. По частотам аллеля *CYP2D6*4* коренные этносы занимают промежуточное положение между русскими Сибири и монголоидами Китая. Однако частоты нулевых генотипов *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0* у коренных этносов достоверно ниже, чем в популяциях русских Сибири и монголоидов Китая ($p < 0,05$). В целом по всем 4 изученным полиморфным вариантам можно прогнозировать пониженный риск онкологических заболеваний у коренных самодийских этносов по сравнению с русскими Сибири. Исключение составляет популяция лесных ненцев, у которых зарегистрирована повышенная частота генотипов *GSTM1 0/0*, что может быть обусловлено своеобразием брачной структуры и повышенным коэффициентом инбридинга. Полученные результаты могут также иметь значение при прогнозировании вероятности осложнений и позитивного ответа на используемые лекарственные препараты, которые метаболизируются ферментами *GSTM1*, *GSTT1* и *CYP2D6*.

Ключевые слова: коренные этносы Северной Сибири, гены биотрансформации ксенобиотиков, real-time PCR, *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *GSTT1 0/0*, *GSTM1 0/0*.

Введение

CYP2D6, *GSTM1*, *GSTT1* – гены системы биотрансформации ксенобиотиков, под которой понимается ферментативное превращение чужеродных веществ (экзотоксины, лекарствен-

ные препараты, канцерогены и др.) в полярные водорастворимые метаболиты, легко выводимые из организма. Система защиты организма от ксенобиотиков представлена трехэтапным процессом и состоит из фазы активации ксенобиотиков, в которой ведущее место занимает

система цитохромов P450 или CYP; фазы нейтрализации, которая осуществляется различными трансферазами и эпоксидгидролазами, и фазы выведения из организма (Саприн, 1991; Райс, Гуляева, 2003). Нередко промежуточные продукты биотрансформации могут быть более токсичными, обладать более выраженными мутагенной, канцерогенной и даже тератогенной активностями, чем исходные соединения, и вследствие этого быть причиной различных патологических состояний и болезней (Кулинский, 1999). Способность метаболизировать ксенобиотики различается у индивидов из-за наличия мутантных вариантов, снижающих или блокирующих экспрессию генов, что во многих исследованиях связывают с повышенным риском развития заболеваний, особенно онкологических (Ляхович и др., 1997; Joseph *et al.*, 2004; Gajeckaa *et al.*, 2005; Фрейдин и др., 2006; Shi *et al.*, 2008).

CYP2D6 – фермент первой фазы биотрансформации ксенобиотиков. Составляет 2–4 % от всех цитохромов в печени человека. Метаболизирует 20–25 % лекарственных препаратов (Rowland *et al.*, 2006; Zhou, 2009). Типичными субстратами CYP2D6 является большинство липофильных оснований: некоторые антидепрессанты, антиаритмики, опиоиды. CYP2D6 ответственен также за метаболизм известных человеку канцерогенов включая нитрозамины, и, возможно, никотин (Abraham, Adithan, 2001). У разных людей активность этого фермента может сильно варьировать. Это связано с тем, что ген CYP2D6, располагающийся в области длинного плеча 13.1 хромосомы 22 (Eichelbaum *et al.*, 1987; Gonzales *et al.*, 1988), является высокополиморфным: описано более 70 его аллельных вариантов (Bertilsson *et al.*, 2002; Zhou, 2009).

Наиболее клинически значимыми являются мутантные аллели CYP2D6*3 и CYP2D6*4, поскольку они, не имея ферментативной активности, ответственны за формирование у человека фенотипа «медленный метаболизатор», определяемого замедлением клиренса лекарственных препаратов и изменением ответа организма на действие этих веществ (Zhou, 2009). 75–90 % всех «медленных метаболизаторов» по CYP2D6 являются носителями мутантных аллелей CYP2D6*3 и CYP2D6*4 (Bartsch *et al.*, 2000; Zanger *et al.*, 2004).

Аллель CYP2D6*3 возник в результате мутации A2549del в экзоне 5, которая привела к сдвигу рамки считывания и в итоге – к образованию поврежденного, нефункционального белка. Вариант CYP2D6*3 (A2549del) встречается в европеоидных популяциях с низкой частотой около 2 % (Sachse *et al.*, 1997; Bertilsson *et al.*, 2002) и отсутствует в популяциях монголоидов (Ryu *et al.*, 1998; Qin *et al.*, 2008). Аллель CYP2D6*4 возник в результате однонуклеотидной замены G1846A в месте соединения интрона 3 и экзона 4, которая привело к нарушению сплайсинга. В итоге образуется белок, содержащий 181 аминокислотный остаток вместо 497, что влечет за собой полную потерю функции фермента (Gresner *et al.*, 2007). Частота аллеля CYP2D6*4 в европейских популяциях довольно высока и варьирует от 20 до 25 % (Sachse *et al.*, 1997; Gawronska-Szklarz *et al.*, 1999; Zanger *et al.*, 2004), в то время как среди монголоидов она минимальна, составляя 0–1 % (Ryu *et al.*, 1998; Qin *et al.*, 2008).

Исходя из функциональной неполноценности мутантных аллелей CYP2D6*3 и CYP2D6*4 было высказано предположение об их возможном участии в процессах, ведущих к развитию раковых заболеваний. Так, была показана связь аллелей CYP2D6*3 и CYP2D6*4 с повышенным риском развития острой лимфобластной лейкемии (Silveira *et al.*, 2010). Вариант CYP2D6*4 значительно повышает риск развития плоскоклеточной карциномы головы и шеи (Yadav *et al.*, 2010). Гомозиготный генотип CYP2D6*4/CYP2D6*4 может быть фактором повышенного риска развития ларингеальной карциномы (Gajeckaa *et al.*, 2005). Проведенные исследования по установлению связи между полиморфизмами гена CYP2D6 и развитием рака легкого однозначных результатов не дали (London *et al.*, 1997; Legrand-Andreoletti *et al.*, 1998; Shaw *et al.*, 1998; Au *et al.*, 2001).

Глутатион-S-трансферазы (GSTs) являются ферментами второй фазы метаболизма ксенобиотиков. У человека выделяют несколько классов глутатион-S-трансфераз: alpha (A), kappa (K), mu (M), omega (O), pi (P), theta (T) и микросомальные (McLellan *et al.*, 1997; Frova, 2006). Эти ферменты катализируют реакцию конъюгации окисленного глутатиона через сульфгидрильную группу с электрофильными

центрами большого разнообразия субстратов, тем самым вовлекаясь в процесс защиты организма против вредных экзогенных субстратов, таких, как канцерогены, лекарственные препараты и токсины окружающей среды, а также продуктов эндогенного происхождения (Keen, Jakoby, 1978; Christiansen *et al.*, 2006).

Гены, кодирующие μ (M) класс ферментов, организованы в генный кластер, расположенный в области короткого плеча первой хромосомы (1p13.3), который включает в себя 5 сцепленных генов: 5'-*GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3'* (Xu *et al.*, 1998). Ген *GSTM1* экспрессируется в печени и клетках крови, экспрессия *GSTM2* наблюдается только в мышцах, а экспрессия генов *GSTM3-5* – в тканях мозга (Seidegard *et al.*, 1988). Ген *GSTM1* протяженностью в 6 т.п.н. состоит из 8 экзонов и 7 интронов (Timofeeva, 2009). Лocus *GSTM1* является полиморфным и представлен тремя аллельными вариантами: *GSTM1 A*, *GSTM1 B*, *GSTM1 0*. Аллельные варианты *GSTM1 A* и *GSTM1 B* являются функционально активными, отличаясь единственной заменой *K127N*, и кодируют белки, мало различающиеся по своей ферментативной активности.

Наиболее значимым для генетических и биомедицинских исследований является «нулевой» вариант *GSTM1 0*, возникший в результате делеции вследствие неравного кроссинговера между гомологичными последовательностями, фланкирующими ген *GSTM1*. В результате делеции соответствующий белковый продукт не синтезируется. Такой генетический вариант снижает чувствительность индивидов к канцерогенам, токсинам и некоторым лекарственным веществам (Seidegard *et al.*, 1988; McLellan *et al.*, 1997; Xu *et al.*, 1998).

Было неоднократно показано, что гомозиготный генотип по делеции гена *GSTM1* связан с повышенным риском развития рака легких (Seidegard *et al.*, 1990; Alexandrie *et al.*, 1994; Ford *et al.*, 2000; Ляхович и др., 2004; Shi *et al.*, 2008). Существуют также многочисленные исследования, подтверждающие связь между отсутствием активности *GSTM1* и риском развития рака мочевого пузыря (Bell *et al.*, 1993; Баранов и др., 1999; Habdous *et al.*, 2004), аденокарциномой желудка и прямой кишки (Zhong *et al.*, 1993; Economopoulos *et al.*, 2010). Р. Стрендж

(Strange *et al.*, 1991) в своей работе показал, что риск заболеваемости раком кишечника и желудка почти в 3 раза больше у людей, имеющих генотип *GSTM1 0/0*. Делеция в этом гене также ассоциирована с повышенным риском развития астмы и других респираторных заболеваний (Tamer *et al.*, 2004). И тем не менее мутантный аллель *GSTM1 0* довольно широко распространен в человеческой популяции. Число людей, гомозиготных по этому аллелю, составляет 40–60 % среди европеоидов, 27–35 % – среди негроидов, 32–53 % – среди монголоидов (Geisler, Olshan, 2001; Dieckvoss *et al.*, 2002). По данным разных авторов, «нулевой» аллель *GSTM1 0* в гомозиготном состоянии присутствует у 40–46 % населения России (Баранов и др., 1999; Вахитова и др., 2001).

Класс theta (T) GSTs включает ферменты *GSTT1* и *GSTT2* (Webb *et al.*, 1996). Было подтверждено, что гены *GSTT1* и *GSTT2*, как и ген *GSTM1*, играют важную роль в процессах канцерогенеза у человека (Setiawan *et al.*, 2000; Demir *et al.*, 2005). С помощью метода гибридизации *in situ* было установлено, что ген *GSTT1* располагается в области 22q11.2 (Webb *et al.*, 1996), занимает около 8 т.п.н. и состоит из 5 экзонов и 4 интронов (Timofeeva *et al.*, 2009). Выявлено, что 15–30 % европеоидов, 22–29 % негроидов и 38–58 % монголоидов являются гомозиготными по делетированному аллелю *GSTT1 0* (Tew *et al.*, 2001; Geisler, Olshan, 2001; Dieckvoss *et al.*, 2002). В популяции русского населения европейской части России частота этого генотипа в среднем составляет 18 % (Хрунин и др., 2008).

С середины XX в. онкологические заболевания демонстрируют повсеместный рост в популяциях человека (Аксель и др., 2001; Муранова, 2010), в том числе и у коренных этносов Сибири (Осипова и др., 1999). Проблема этнических различий в чувствительности к онкозаболеваниям по-прежнему остается актуальной. Объектом нашего исследования явились коренные малочисленные народы Северной Сибири (КМНС) – селькупы и лесные ненцы Ямало-Ненецкого автономного округа и нганасаны полуострова Таймыр, все они по языку относятся к самодийской ветви уральской языковой семьи. По антропологическим и генетическим данным в их генофондах фиксируют-

ся европеоидная и монголоидная компоненты (Дебец, 1947; Sukernik *et al.*, 1978; Карафет и др., 1994; Осипова, 1994; Дербенева и др., 2002; Karafet *et al.*, 2002; Аксянова и др., 2003; Гольцова и др., 2005). Наличие европеоидной компоненты объясняется тем, что этническое ядро современных северо-самодийских народностей сформировалось в результате синтеза древнего аборигенного субстрата Заполярья и самодоязычных групп, имевших контакт с европеоидами на разных этапах своей истории (Васильев, 1979).

Селькупы. Селькупский этнос в настоящее время представлен северными селькупам, живущими на территории Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО) и Туруханского района Красноярского края, и южными селькупам, расселенными в основном на территории Томской области. Согласно переписи 2002 г., на территории ЯНАО проживают 1797 человек (<http://www.perepis2002.ru/index.html?id=44>). В XVII в. часть селькупов из Томско-Нарымского Приобья переселились на Север, на реку Таз, позднее – на реку Турухан, образовав группу северных селькупов, дисперсно расселенную по 7 локальностям: Фарково, Советская Речка, Красноселькуп, Толька Красноселькупская, Толька Пуровская, Ратта, Кики-Акки. Популяционно-генетические исследования северных селькупов проведены в 1988–2007 гг. по всему ареалу расселения (Осипова и др., 2007).

Лесные ненцы численностью около 2 тыс. человек проживают в основном на территории Пуровского района ЯНАО. Популяция лесных ненцев является частью большого ненецкого этноса, самого крупного из самодийских этносов, который включает в себя также европейских и сибирских тундровых ненцев. В составе лесных ненцев различают четыре рода – Айваседо, Пяк, Вэлло, Иуси. У лесных ненцев наблюдается высокая частота выявляемости родственных браков, поэтому коэффициент инбридинга по родословным (0,012) у них значительно выше, чем у нганасан, селькупов и тундровых ненцев (Абанина, Сукерник, 1980; Абанина, 1982; Посух и др., 1996; Гольцова, Осипова, 2006).

Нганасаны проживают на территории Таймырского (Долгано-Ненецкого) муниципального района Красноярского края и являются самым северным народом Евразии и самым

древним народом Таймыра. Нганасаны сложились на основе древнего палеоазиатского населения Таймыра, неолитических охотников на дикого северного оленя, смешавшегося с самодийскими и тунгусскими племенами. По данным Всероссийской переписи населения 2002 г., на территории Таймыра проживает 766 нганасан в поселках Усть-Авам и Волочанка (авамская группа) и в поселке Новая (вадеевская группа). В настоящее время нганасанский этнос подвержен мощным процессам ассимиляции с пришлым населением, поэтому популяционная выборка нганасан была сформирована с учетом генеалогических данных, собранных сотрудниками ИКЭМ СО АМН СССР и ИЦиГ СО РАН в 1974–2000 гг. (Т.В. Гольцова, Л.П. Осипова).

Коренные этносы Сибири не только представляют собой уникальную модель для изучения генетических процессов, происходящих в популяциях человека, но и ценны сами по себе как этносы, освоившие самые суровые для проживания регионы Северной Сибири. Начиная с 1960-х гг. на Севере происходило бурное развитие промышленности, что привело к изменению традиционного уклада жизни коренных этносов, к проникновению новых химических веществ, лекарств и других «загрязнителей» в среду их обитания. Устойчивость коренных этносов к этим инновациям во многом зависит от состояния их генофондов, способности метаболизировать чужеродные вещества окружающей среды, воздействующие на организм.

Поскольку ферменты биотрансформации ксенобиотиков имеют огромное значение для защиты организмов от действия чужеродных веществ, целью данного исследования является изучение полиморфизма генов *CYP2D6* (аллели *3 и *4), *GSTM1*, *GSTT1* (нулевые генотипы) в популяциях селькупов, лесных ненцев, нганасан и русских Сибири в этническом контексте и в связи с риском возникновения онкозаболеваний.

Материалы и методы

Материал для исследования собирался во время экспедиций 1988–2009 гг. в Ямало-Ненецкий автономный округ и на п-ов Таймыр Красноярского края под руководством к.б.н. Л.П. Осиповой. Забор крови производился по международным правилам с использованием

«Информированного согласия» от добровольцев, практически здоровых на момент исследования. Выборки были сформированы из пула этнических представителей селькупов (N = 330), лесных ненцев (N = 303), нганасан (N = 186), русских Сибири (N = 346). В эти выборки не вошли метисы разных уровней от браков с русским и другими пришлыми этносами. В качестве сравнения также использовались литературные данные для монголоидов Китая (Setiawan *et al.*, 2000; Qin *et al.*, 2008).

Образцы ДНК были выделены из лейкоцитарных фракций венозной крови стандартным методом фенол-хлороформной экстракции с использованием протеиназы К. Выявление делеций в генах *GSTM1* и *GSTT1* проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-time PCR) с интеркалирующим флюоресцентным красителем SYBR Green I и анализом кривых плавления (в модификации к.б.н. М.Л. Филипенко). Праймеры для ПЦР были выбраны внутри области делеций в генах *GSTM1* и *GSTT1* таким образом, чтобы обеспечивалось отсутствие синтеза соответствующего продукта ПЦР при анализе образцов ДНК с *GSTM1 0/0* или *GSTT1 0/0* соответственно. Для того чтобы отличить наличие гомозиготной делеции в генах *GSTT1* и *GSTM1* от отсутствия ДНК матрицы или ингибирования реакции ПЦР, в амплификационную смесь вводили праймеры для амплификации короткого легкоплавкого А/Т-богатого фрагмента ДНК (LTM – low temperature melting). Праймеры были синтезированы в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, их структуры представлены в табл. 1.

Амплификация осуществлялась с применением методики hot-старт, при этом праймеры и dNTPs с помощью парафина отделялись от ДНК и Taq-полимеразы. Состав ПЦР-смеси имел следующий состав: буфер (65 mM Tris-HCl (pH 8,9); 0,05 % Tween 20; 16 mM (NH₄)₂SO₄; 3,5 mM MgCl₂), 0,8× SYBR Green, 0,2 mM dNTPs, 0,3 мкМ праймеры, 0,5 ед. термостабильной Taq-полимеразы. Реакционный объем составлял 25 мкл, каждая реакционная смесь была покрыта равным объемом минерального масла. Размеры амплифицируемых фрагментов: *GSTM1* – 229 пар оснований, *GSTT1* – 287 пар оснований, LTM – 127 пар оснований. Амплификация про-

водилась с помощью амплификатора iCycler iQ5 (Bio-Rad, США).

Условия ПЦР: начальная денатурация 3 мин при 95 °С; далее 38 циклов по три шага: денатурация 5 с при 95 °С, отжиг праймеров 5 с при 64 °С, элонгация 12 с при 72 °С. Регистрация флюоресцентного сигнала – 10 с при 78 °С, затем 10 с при 84 °С для *GSTM1* или 91 °С для *GSTT1*. Кривые плавления регистрировали в течение 61 цикла с повышением температуры на 0,5 °С в каждом цикле от начальной температуры 65 °С, регистрация флюоресцентного сигнала производилась на каждом цикле.

Полученные результаты интерпретировали исходя из анализа графиков накопления флюоресценции, специфичность оценивалась с помощью кривой плавления. Накопление флюоресцентного сигнала прямо пропорционально накоплению фрагментов ДНК, так как использовался интеркалирующий краситель SYBR Green I – вещество, флюоресценция которого значительно увеличивается при связывании с двуцепочечной молекулой ДНК. При регистрации кривых плавления происходила денатурация двуцепочечных продуктов ПЦР и, соответственно, снижался уровень флюоресцентного сигнала, температура плавления составляла 78 °С для LTM, 85 °С – *GSTM1* и 91 °С – *GSTT1*.

Генотипирование однонуклеотидных замен в гене *CYP2D6* проводилось в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Каждый образец амплифицировался с использованием пары праймеров

Таблица 1

Структуры праймеров для локусов *GSTM1*, *GSTT1* и LTM

Название локуса	Последовательности праймеров
<i>GSTM1</i>	5'GGTCAAGGACATCATAGACGAGAA3' 5'CTCAGGAGAACTGAAGCCAAA3'
<i>GSTT1</i>	5'GCTAGTTGCTGAAGTCCTGCTTA3' 5'CTTGGCCTTCAGAATGACCT3'
LTM	5'TGGGTGCTAGAGGTATAATCG3' 5'TTAGAGGAAGCTGGGTAAGAG3'

и двух зондов, несущих «гаситель» на 3'-конце и разные флюоресцентные красители (FAM либо R6G) на 5'-конце. Структуры праймеров и зондов приведены в табл. 2.

Общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл, смесь содержала ДНК с концентрацией 15 нг/мкл, 300 нМ каждого праймера; по 100–200 нМ TaqMan-зондов, конъюгированных с FAM или R6G; 200 мкМ dNTPs, амплификационный буфер (650 мМ Tris-HCl, 240 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,5 % Tween 20, 35 мМ MgCl₂), термостабильную Taq-полимеразу – 0,5 ед. акт./реакцию. ПЦР проводилась в следующих условиях: начальная денатурация 1 мин 30 с при 96 °С; затем 45 циклов, включающих денатурацию при 96 °С 8 с, отжиг праймеров и последующую элонгацию при 60 °С в течение 40 с (каждый шаг сопровождался регистрацией флюоресцентного сигнала в диапазонах, соответствующих интервалам флюоресценции флуорофоров FAM и R6G. Работа проводилась с использованием амплификатора iCycler iQ 4 (Bio-Rad, USA). Полученные данные обрабатывались с помощью программы «Bio-Rad iQ5». Популяционные частоты аллельных вариантов вычисляли на основе наблюдаемых частот генотипов. Оценку соответствия распределения

частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга проводили с использованием критерия χ^2 (Пирсона), применяя on-line тест-программу (<http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>) (при $p > 0,05$ равновесие выполняется).

Оценку достоверности различий по частотам аллелей и генотипов между исследованными выборками проводили по критерию χ^2 с помощью статистической программы Statistica 1993 (при $p < 0,05$ результаты считались достоверно значимыми).

Результаты

Частоты генотипов полиморфных вариантов *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* гена *CYP2D6* представлены в табл. 3 и 4. Во всех обследованных популяциях наблюдается соответствие распределения частот *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* генотипов равновесию Харди–Вайнберга. Следует отметить, что мутантный гомозиготный вариант *CYP2D6*3 del/del* не был встречен ни в одной из исследованных выборок. Вариант *CYP2D6*4 A/A* выявлен только среди нганасан и русских Сибири.

Частоты аллеля *CYP2D6*3 (2549del)* невысоки во всех исследованных популяциях, однако у

Таблица 2

Структуры праймеров и зондов, используемых для генотипирования в режиме реального времени методом конкурирующих TaqMan-зондов

Аллель	Последовательность праймеров	Последовательность зондов
<i>CYP2D6*3</i>	5'TGGCAATGTCCTACGCTTC3' 5'CTCTCACSTTCTCCATCTCTGC3'	5'FAM - TGAGCACAGGATGACCT – BHQ3' 5'R6G – TGAGCACGGATGACCT – BHQ3'
<i>CYP2D6*4</i>	5'TTGCTCACGGCTTTGTCCAGG3' 5'GGCAAGAAGTCGCTGGACCAG3'	5'R6G – CCCCCAGGACGCCCT – BHQ3' 5'FAM – CCCCCAAGACGCCCTT – BHQ3'

Таблица 3

Распределение генотипов полиморфного варианта *CYP2D6*3* и соответствие равновесию Харди–Вайнберга в исследованных популяциях

Популяции	Частоты генотипов, %			Соответствие равновесию Харди–Вайнберга
	<i>A/A</i>	<i>A/del</i>	<i>del/del</i>	
Селькупы (330)*	99,10 (327)	0,90 (3)	0,00	$p = 0,93$
Лесные ненцы (303)	100,00 (303)	0,00 (0)	0,00	$p = 1,00$
Нганасаны (186)	99,46 (185)	0,54 (1)	0,00	$p = 0,97$
Русские Сибири (346)	96,53 (334)	3,47 (12)	0,00	$p = 0,74$

* В скобках даны размер выборки и количество лиц с конкретным генотипом.

Таблица 4

Распределение генотипов полиморфного варианта *CYP2D6*4* и соответствие равновесию Харди–Вайнберга в исследованных популяциях

Популяции	Частоты генотипов, %			Соответствие равновесию Харди–Вайнберга
	<i>G/G</i>	<i>G/A</i>	<i>A/A</i>	
Селькупы (322)*	91,93 (296)	8,07 (26)	0,00 (0)	$p = 0,45$
Лесные ненцы (299)	93,31 (279)	6,69 (20)	0,00 (0)	$p = 0,55$
Нганасаны (184)	85,87 (158)	13,59 (25)	0,54 (1)	$p = 0,99$
Русские Сибири (317)	69,10 (219)	27,40 (87)	3,5 (11)	$p = 0,52$

* В скобках даны размер выборки и количество лиц с конкретным генотипом.

русских эта частота достоверно выше ($p < 0,05$), чем у коренных народов (табл. 5).

Частоты аллеля *CYP2D6*4* (*A1846*) сходны у селькупов и лесных ненцев ($p = 0,64$), однако у нганасан его частота выше в 2 раза, а у русских Сибири выше примерно в 4 раза. По частотам данного аллеля все самодийцы отличаются до-

стоверно от популяций русских и монголоидов Китая ($p < 0,005$) (табл. 6).

Частоты нулевых генотипов *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0*, представленные в табл. 7, гораздо сильнее варьируют в исследованных популяциях по сравнению с аллелями локуса *CYP2D6*.

Таблица 5

Частоты аллеля *CYP2D6*3* (*2549del*) и достоверность различий между популяциями

Популяции	Общее число аллелей	Частота <i>CYP2D6*3</i> (<i>2549del</i>), %	Селькупы	Лесные ненцы	Нганасаны	Русские	Китайцы
Селькупы	660	0,45		$p = 0,28$	$p = 0,95$	$p = 0,02$	$p = 0,19$
Лесные ненцы	606	0,00	$\chi^2 = 1,16$		$p = 0,81$	$p = 0,00$	p^*
Нганасаны	372	0,27	$\chi^2 = 0,00$	$\chi^2 = 0,06$		$p = 0,04$	$p = 0,70$
Русские Сибири	692	1,73	$\chi^2 = 5,34$	$\chi^2 = 10,34$	$\chi^2 = 4,06$		$p = 0,00$
Китайцы (Qin et al., 2008)	800	0,00	$\chi^2 = 1,75$	χ^2^*	$\chi^2 = 0,15$	$\chi^2 = 11,68$	

Примечание. Выделены статистически значимые величины парных различий (то же для табл. 6, 8, 9). p^* – вычислить значение χ^2 не представляется возможным, так как в выборках лесных ненцев и китайцев частоты мутантного аллеля равны нулю.

Таблица 6

Частоты аллеля *CYP2D6*4* (*A1846*) и достоверность различий между популяциями

Популяции	Общее число аллелей	Частота <i>CYP2D6*4</i> (<i>A1846</i>), %	Селькупы	Лесные ненцы	Нганасаны	Русские Сибири	Китайцы
Селькупы	644	4,04		$p = 0,64$	$p = 0,04$	$p = 0,00$	$p = 0,00$
Лесные ненцы	598	3,34	$\chi^2 = 0,22$		$p = 0,01$	$p = 0,00$	$p = 0,00$
Нганасаны	368	7,34	$\chi^2 = 3,98$	$\chi^2 = 6,27$		$p = 0,00$	$p = 0,00$
Русские Сибири	634	17,20	$\chi^2 = 46,22$	$\chi^2 = 50,08$	$\chi^2 = 14,31$		$p = 0,00$
Китайцы (Qin et al., 2008)	800	0,14	$\chi^2 = 26,52$	$\chi^2 = 21,08$	$\chi^2 = 49,21$	$\chi^2 = 121,06$	

Таблица 7
Частоты генотипов
GSTM1 0/0 и *GSTT1 0/0*
в исследованных популяциях

Популяции	Частота <i>GSTM1 0/0</i> , %	Частота <i>GSTT1 0/0</i> , %
Селькупы (330)*	20,00	14,85
Лесные ненцы (303)	35,31	9,90
Нганасаны (186)	9,14	12,37
Русские Сибири (341)	48,09	38,71

* В скобках дан размер выборки.

В табл. 8, 9 представлены достоверности различий в частотах *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0* генотипов между популяциями.

По частотам *GSTM1 0/0* самодийские популяции достоверно отличаются как друг от друга, так и от монголоидов Китая и от русских Сибири. По частотам генотипа *GSTT1 0/0* самодийские популяции схожи между собой, но достоверно отличаются как от монголоидов Китая, так и от русских Сибири.

Мы сочли целесообразным провести межпопуляционное сравнение суммарной встречае-

мости «нулевых» генотипов глутатион-S-трансфераз M1 и T1 включая «двойные» сочетания *GSTM1 0/0 / GSTT1 0/0* (табл. 10).

По суммарной представленности всех вариантов сочетания «нулевых» генотипов наибольшее значение имеют русские Сибири (почти 64%), а наименьшая суммарная частота наблюдается у нганасан Таймыра – около 16%.

Обсуждение результатов

Крайне низкие частоты встречаемости аллеля *CYP2D6*3* среди селькупов и нганасан и полное его отсутствие у лесных ненцев сравнимы с частотами, наблюдаемыми в монголоидных популяциях Евразии (Ryu *et al.*, 1998; Qin *et al.*, 2008). У русских Сибири так же, как и в других европеоидных популяциях Эстонии и Германии (Marandi *et al.*, 1997; Sachse *et al.*, 1997), частота этого аллеля тоже невысока (около 2%), хотя имеет достоверные отличия от таковых у коренных этносов Сибири. Можно предположить, что существуют селективные механизмы, препятствующие накоплению этого варианта в популяциях, либо же этот аллель имеет сравнительно недавнее эволюционное происхождение,

Таблица 8
Достоверность различий в частотах *GSTM1 0/0* генотипа между популяциями

Популяции	Селькупы	Лесные ненцы	Нганасаны	Русские Сибири	Китайцы
Селькупы		$p = 0,00$	$p = 0,01$	$p = 0,00$	$p = 0,00$
Лесные ненцы	$\chi^2 = 10,08$		$p = 0,00$	$p = 0,04$	$p = 0,01$
Нганасаны	$\chi^2 = 7,05$	$\chi^2 = 25,34$		$p = 0,00$	$p = 0,00$
Русские Сибири	$\chi^2 = 28,35$	$\chi^2 = 4,16$	$\chi^2 = 42,94$		$p = 0,68$
Китайцы (Setiawan <i>et al.</i> , 2000)*	$\chi^2 = 35,48$	$\chi^2 = 6,63$	$\chi^2 = 48,59$	$\chi^2 = 0,17$	

* Частота генотипа *GSTM1 0/0* в китайской выборке (429 человек) составляет 51,00%.

Таблица 9
Достоверность различий в частотах *GSTT1 0/0* генотипа между популяциями

Популяции	Селькупы	Лесные ненцы	Нганасаны	Русские Сибири	Китайцы
Селькупы		$p = 0,12$	$p = 0,58$	$p = 0,00$	$p = 0,00$
Лесные ненцы	$\chi^2 = 2,38$		$p = 0,54$	$p = 0,00$	$p = 0,00$
Нганасаны	$\chi^2 = 0,30$	$\chi^2 = 0,38$		$p = 0,00$	$p = 0,00$
Русские Сибири	$\chi^2 = 27,33$	$\chi^2 = 42,29$	$\chi^2 = 22,63$		$p = 0,23$
Китайцы (Setiawan <i>et al.</i> , 2000)*	$\chi^2 = 42,90$	$\chi^2 = 59,46$	$\chi^2 = 32,77$	$\chi^2 = 1,46$	

* Частота генотипа *GSTT1 0/0* в китайской выборке (429 человек) составляет 46,00%.

Таблица 10

Частоты сочетания «нулевых» генотипов *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0*
в исследованных популяциях

Популяции	Частоты генотипов, %		
	<i>GSTM1 0/0 / GSTT1 +</i>	<i>GSTM1 + / GSTT1 0/0</i>	<i>GSTM1 0/0 / GSTT1 0/0</i>
Селькупы (330)	17,27 (57)	12,12 (40)	2,73 (9) *
Лесные ненцы (303)	32,34 (98)	6,93 (21)	2,97 (9)
Нганасаны (186)	6,45 (12)	6,45 (12)	2,69 (5)
Русские (341)	25,22 (86)	15,84 (54)	22,87 (78)

* Частоты сочетания генотипов *GSTM1 0/0 / GSTT1 0/0* в выборках коренных народов достоверно отличаются от таковой для русских ($p < 0,05$). В скобках приведено количество лиц с конкретным сочетанием генотипов.

предположительно, в европеоидной ветви. Частоты аллеля *CYP2D6*4* в популяциях коренных этносов имеют промежуточные значения между таковыми для монголоидов Китая и русских Сибири. Аналогичный вывод был сделан при исследовании выборки (102 чел.) тундровых ненцев (Duzhak *et al.*, 2000). Частота *CYP2D6*4* в исследованной нами выборке русских Сибири согласуется с данными, полученными для выборки русских ($N = 290$), проживающих в европейской части России (Воронежская область) (18,2 %; $p = 0,73$) и в Эстонии (14,4 %; $p = 0,35$), а также для европейской выборки Германии (20,7 %; $p = 0,15$) (Sachse *et al.*, 1997; Marandi *et al.*, 1997; Gaikovitch *et al.*, 2003). Таким образом, частоты мутантных вариантов гена *CYP2D6*, первой фазы биотрансформации ксенобиотиков, достоверно ниже в выборках коренных этносов, чем в выборке русских Сибири и в других европеоидных популяциях. У коренных этносов преобладают лица с нормальной активностью соответствующих ферментов *CYP2D6*.

Что касается глутатион-S-трансфераз, то частоты «нулевых» генотипов *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0* гораздо сильнее варьируют в исследованных популяциях по сравнению с аллелями локуса *CYP2D6*. Частота «нулевых» генотипов у русских Сибири оказалась ожидаемо высокой – 48 % для *GSTM1 0/0* и около 39 % для *GSTT1 0/0*. Частота *GSTM1 0/0* для русских Сибири сравнима с таковыми для русских европейской части России (40 % по данным В.С. Баранова с соавт. (1999)), русских Волго-Уральского региона России (46,2 %; $p = 0,96$) (Вахитова и др., 2001) и европеоидов Германии (54,1 %; $p = 0,51$) (Kempkes *et al.*, 1996). Однако частота другого

генотипа, *GSTT1 0/0*, у русских Сибири в 2 раза выше, чем у русских европейской части России (Хрунин и др., 2008) и у европеоидов Германии ($p < 0,05$) (Kempkes *et al.*, 1996).

Что касается изученных самодийских популяций, то по частотам генотипа *GSTT1 0/0* они достоверно не отличаются между собой, и встречаемость *GSTT1 0/0* в этих популяциях существенно ниже, чем у русских Сибири и монголоидов Китая ($p = 0,00$).

Наименьшее количество носителей «нулевого» генотипа *GSTM1 0/0* наблюдается среди нганасан (9,14 %). У лесных ненцев отмечен феномен необычно высокой частоты *GSTM1 0/0* (около 35 %). По данным литературы, в родственной лесным ненцам по языку популяции тундровых ненцев Самбурга в выборке из 102 практически здоровых человек была зафиксирована примерно такая же частота *GSTM1 0/0* – 39,8 % ($p = 0,71$) (Duzhak *et al.*, 2000). Однако среди тундровых ненцев, больных раком или имеющих хромосомные аномалии ($N = 28$), частота «нулевого» генотипа *GSTM1 0/0* оказалась гораздо выше и составила почти 63 % (Duzhak *et al.*, 2001). Таким образом, впервые была показана связь между наличием мутантного «нулевого» генотипа *GSTM1 0/0* и риском развития онкологических заболеваний у самодийских этносов. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении с вовлечением широкого спектра генетических маркеров и увеличением объема выборок больных лиц.

Столь разная представленность генотипа *GSTM1 0/0* в самодийских популяциях, достоверно отличающаяся от его частоты среди европеоидов и монголоидов, вероятно, может

говорить о расхождении в становлении, развитии каждого из коренных этносов, и, возможно, это связано с тем, что условия среды и факторы микроэволюции по-разному действовали на коренные северные популяции. Их малая численность могла способствовать дрейфу генов и последующему отбору в пользу наиболее «приспособленных» генотипов в условиях жесткой среды обитания.

Распределение частот генотипов *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0* исследовано и в других коренных популяциях Сибири (Ахматьянова и др., 2008; Хрунин и др., 2008). Однако для некоторых этнических групп (бурятов, калмыков, ханты) не указаны размеры популяционных выборок (Попова и др., 2002), что явилось препятствием для адекватных сравнений. Мы провели сравнение популяций телеутов, шорцев и якутов с популяциями самодийцев. Оказалось, что частоты *GSTM1 0/0* у селькупов и лесных ненцев достоверно выше, чем у телеутов и шорцев ($p < 0,05$), но сходны у нганасан и телеутов ($p = 0,77$). В то же время частота *GSTM1 0/0* у якутов достоверно выше, чем у селькупов и нганасан, и сходна с частотой у лесных ненцев ($p = 0,57$). Частота другого генотипа, *GSTT1 0/0*, также ниже в самодийских популяциях по сравнению с якутами и телеутами, но эти различия достоверны только для популяции лесных ненцев. С шорцами имеют сходство лесные ненцы ($p = 0,67$).

Проведенное попарное сравнение выявило существенную вариабельность в колебаниях частот «нулевых» генотипов глутатион-S-трансфераз M1 и T1 между коренными популяциями Сибири. Необычным представляется двукратное преобладание частоты *GSTT1 0/0* над частотой *GSTM1 0/0* у телеутов, поскольку, по литературным данным, обычно эти частоты схожи, либо преобладает *GSTM1 0/0*.

В табл. 10 приведено распределение различных сочетаний генотипов *GSTM1 0/0* и *GSTT1 0/0* в исследованных популяциях. Видно, что общая сумма частот «нулевых» *GSTs*-вариантов минимальна у нганасан (15,6 %). У селькупов это значение почти в 2 раза выше, а наибольшую величину среди коренных этносов имеют лесные ненцы – около 42 %. Максимальная суммарная частота «нулевых» вариантов наблюдается у русских Сибири, почти 64 %. Оказалось, что по сравнению с русской сибирской популяцией

в популяциях коренных северных этносов с наименьшей частотой присутствуют носители одновременно двух «нулевых» вариантов генов глутатион-S-трансфераз. Возможно, одновременное наличие двух «нулевых» генотипов более неблагоприятно для фенотипа, чем сочетание двух положительных (*GSTM1 + / GSTT1 +*) или одного нулевого варианта (*GSTM1 + / GSTT1 0/0* или *GSTM1 0/0 / GSTT1 +*). Не исключено, что сочетание двух мутантных генотипов одновременно ограничивалось отбором и повлияло на устойчивость коренных этносов к жестким природным условиям Севера.

В целом исследуемые популяции коренных самодийских этносов Северной Сибири имеют достоверно сниженное содержание «нулевых» вариантов генов *GSTM1* и *GSTT1*, маркеров риска развития онкологических заболеваний, по сравнению с русскими Сибири и монголоидами Китая, что, вероятно, может обеспечивать данные этносы меньшим риском развития онкопатологий на популяционном уровне. Но стоит учитывать тот факт, что коренные этносы проживают в зоне экстремальных природных условий с высоким уровнем антропогенной и техногенной нагрузки на окружающую среду, что может негативно сказываться на здоровье населения и его чувствительности к онкологическим заболеваниям, так как в процессе канцерогенеза задействованы многие механизмы. Кроме того, в настоящее время в популяциях коренных этносов увеличивается степень метисации, что способствует привнесению «новых» генных вариантов в их генофонды и может изменять степень риска развития подобных заболеваний.

Наше исследование позволило впервые выявить распределение полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков в коренных самодийских популяциях селькупов, лесных ненцев и нганасан, а также у русских Сибири. В целом по всем 4 изученным полиморфным вариантам можно прогнозировать пониженный риск онкологических заболеваний у коренных самодийских этносов по сравнению с русскими Сибири. Исключение составляет популяция лесных ненцев, в которой зарегистрирована повышенная частота генотипов *GSTM1 0/0*, что может быть обусловлено своеобразием брачной структуры и повышенным коэффициентом инбридинга.

Полученные результаты могут также иметь значение при прогнозировании вероятности осложнений и негативного ответа на используемые лекарственные препараты, которые метаболизируются ферментами *GSTM1*, *GSTT1* и *CYP2D6*.

Финансовая поддержка данного исследования осуществлялась Интеграционным проектом № 5.5 (2006–2008 гг.), Гос. контрактом № 01-15/36 и экспедиционными грантами СО РАН № 1/8 за 2008 г. и № 1/2 за 2009 г. (для О.Л.П.); Интеграционными проектами СО РАН № 17 (2009–2011 гг.) и № 84 (2009–2011 гг.) (для Ф.М.Л.).

Авторы выражают глубокую благодарность представителям коренных этносов, принявшим участие в данном исследовании. А также Е.А. Зубкову и М.Н. Бочкареву за выделение образцов ДНК; Н.А. Бурлаковой, Т.В. Чуркиной, Н.А. Молетотовой, Т.М. Карафет и С.Г. Вепреву за помощь в проведении экспедиционных исследований.

Литература

- Абанина Т.А., Сукерник Р.И. Популяционная структура лесных ненцев. Сообщение II. Результаты генеалогического изучения // Генетика. 1980. Т. 16. № 1. С. 156–164.
- Абанина Т.А. Популяционная структура лесных ненцев: демографические характеристики, структура браков, миграция, анализ смещения // Генетика. 1982. Т. 18. № 11. С. 1884–1893.
- Аксель Е.М., Давыдов М.И., Ушакова Т.И. и др. Злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта: основные статистические показатели и тенденции. 2001. Доступно: <http://www.consilium-medicum.com/article/8413>
- Аксянова Г.А., Богашев А.Н., Богордаева А.А. и др. Этнография и антропология Ямала / Ред. А.Н. Богашев. Новосибирск: Наука, 2003. 390 с.
- Ахматьянова В.Р., Остапцева А.В., Шабалдин А.В. и др. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз *M1* и *T1* (*GSTM1* и *GSTT1*) у коренного и пришлого населения Кемеровской области // Генетика. 2008. Т. 44. № 4. С. 539–542.
- Баранов В.С., Асеев М.В., Баранова Е.В. «Гены предрасположенности» и генетический паспорт. 1999. Доступно: <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1178666&uri=page1.html>
- Васильев В.И. Происхождение северо-самодийских народностей. М.: Наука, 1979. 242 с.
- Вахитова Ю.В., Султанаева З.М., Викторова Т.В. и др. Анализ полиморфизма гена глутатион-S-трансферазы в популяциях Волго-Уральского региона // Генетика. 2001. Т. 37. № 2. С. 268–270.
- Всероссийская перепись населения РФ 2002. Том 13. Коренные малочисленные народы Российской Федерации. Доступно: <http://www.perepis2002.ru/index.html?id=44>
- Гольцова Т.В., Осипова Л.П. Генетико-демографическая структура популяций коренных народов Сибири в связи с проблемами микроэволюции // Информ. вестник ВОГиС. 2006. Т. 10. № 1. С. 126–154.
- Гольцова Т.В., Осипова Л.П., Жаданов С.И., Виллемс Р. Влияние брачной миграции на генетическую структуру популяции нганасан Таймыра: генеалогический анализ по маркерам митохондриальной ДНК // Генетика. 2005. № 5. С. 1–11.
- Дебед Г.Ф. Селькупы (антропологический очерк) // Тр. Ин-та этнографии. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1947. С. 103–145.
- Дербенева О.А., Стариковская Е.Б., Володько Н.В. и др. Изменчивость митохондриальной ДНК у кетов и нганасан в связи с первоначальным заселением Северной Евразии // Генетика. 2002. Т. 38. № 11. С. 1–6.
- Карафет Т.М., Посух О.Л., Осипова Л.П. Популяционно-генетические исследования коренных жителей Сибирского Севера // Сиб. экол. журнал. 1994. № 2. С. 113–127.
- Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков // Сорос. образоват. журнал. 1999. № 1. С. 8–12.
- Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гришанова А.Ю. и др. Фармакогенетика и современная медицина // Вестн. Рос. акад. мед. наук. 2004. № 10. С. 40–45.
- Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гуткина Н.И. и др. Гены и ферменты системы метаболизма ксенобиотиков в онкопатологии // Вопр. мед. химии. 1997. Т. 43. Вып. 5. С. 330–337.
- Муранова О.Ю. Эпидемиология рака молочной железы в Приморском крае. Пути профилактики и ранней диагностики: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2010.
- Осипова Л.П. Генетические маркеры иммуноглобулинов (система *Gm*) для оценки процессов миграции и метисации в популяциях человека в Северной Сибири // Сиб. экол. журнал. 1994. Т. 1. № 2. С. 129–140.
- Осипова Л.П., Посух О.Л., Пономарева А.В. и др. Окружающая среда и ее влияние на генофонд человека: опыт комплексных исследований // Информ. вестник ВОГиС. 1999. № 8. С. 11–16.
- Осипова Л.П., Сенькова Н.А., Карафет Т.М. и др. Генетическая структура популяции северных селькупов по маркерам групп крови // Генетическая демография и биомедицина: результаты

- исследований коренного населения Приуральского и Красноселькупского районов ЯНАО // Науч. вестн. Ямало-Ненецкого автономного округа. 2007. Вып. 8. № 52. С. 61–75.
- Попова С.Н., Сломинский П.А., Галушкин С.Н. и др. Полиморфизм глутатион-S-трансфераз M1 и T1 в ряде популяций России // Генетика. 2002. Т. 38. № 2. С. 281–284.
- Посух О.Л., Осипова Л.П., Крюков Ю.А., Ивакин Е.А. Генетико-демографический анализ популяций коренных жителей Самбургской тундры // Генетика. 1996. Т. 32. № 6. С. 822–829.
- Райс Р.Х., Гуляева Л.Ф. Биологические эффекты токсических соединений. Новосибирск: НГУ, 2003. 208 с.
- Саприн А.Н. Ферменты метаболизма и детоксикации ксенобиотиков // Усп. биол. химии. 1991. Т. 32. С. 146–172.
- Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Генетика атопии: современное состояние // Информ. вестник ВОГиС. 2006. Т. 10. № 3. С. 492–503.
- Хрунин А.В., Хохрин Д.В., Лимборская С.А. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз в популяциях русского населения европейской части России // Генетика. 2008. Т. 44. С. 1429–1434.
- Abraham B.K., Adithan C. Genetic polymorphism of *CYP2D6* // Indian J. Pharmacol. 2001. V. 33. P. 147–169.
- Alexandrie A.-K., Ingelman-Sundberg M., Seidegard J. *et al.* Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on *CYP1A1* and *GSTM1*: a study on host factors in relation to age at onset, gender and histological cancer types // Carcinogenesis. 1994. V. 15. P. 1785–1790.
- Au W.W., Oh H.Y., Grady J. *et al.* Usefulness of genetic susceptibility and biomarkers for evaluation of environmental health risk // Env. Mol. Mutagen. 2001. V. 37. P. 215–225.
- Bartsch H., Nair U., Risch A. *et al.* Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent. 2000. V. 9. P. 3–28.
- Bell D.A., Taylor J.A., Paulson D.F. *et al.* Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (*GSTM1*) that increases susceptibility to bladder cancer // J. Natl. Cancer Inst. 1993. V. 85. N 14. P. 1159–1164.
- Bertilsson L., Dahl M.-L., Dalen P., Al-Shurbaji A. Molecular genetics of *CYP2D6*: Clinical relevance with focus on psychotropic drugs // Br. J. Clin. Pharmacol. 2002. V. 53. N 2. P. 111–122.
- Christiansen L., Brasch-Andersen C., Bathum L. *et al.* A longitudinal study of the effect of *GSTT1* and *GSTM1* gene copy number on survival // Mech. Ageing Dev. 2006. V. 127. P. 597–599.
- Dieckvoss B.-O., Stanulla M., Schrappe M. Polymorphisms within glutathione S-transferase genes in pediatric non-Hodgkin's lymphoma // Haematologica. 2002. V. 87. P. 709–713.
- Demir A., Altin S., Demir I. *et al.* The frequency of *GSTT1* null genotype in Turkish population and lung cancer risk // Orig. Commun. 2005. V. 11. N 2. P. 89–93.
- Duzhak T., Mitrofanov D., Ostashevskii V. *et al.* Genetic polymorphisms of *CYP2D6*, *CYP1A1*, *GSTM1* and *p53* genes in a unique Siberian population of Tundra Nentsi // Pharmacogenetics. 2000. V. 10. N 6. P. 531–537.
- Duzhak T.G., Osipova L.P., Posukh O.L. *et al.* Genetic polymorphisms of *CYP1A1*, *GSTM1* and *p53* genes in a unique Siberian population of Tundra Nentsi and its pharmacogenetic importance // Int. J. Circumpolar Health. 2001. V. 60. N 2. P. 228–234.
- Economopoulos K.P., Sergentanis T.N. *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *GSTA1* and colorectal cancer risk: a comprehensive meta-analysis // Eur. J. Cancer. 2010. V. 46. N 9. P. 1617–1631.
- Eichelbaum M., Baur M.P., Dengler H.J. *et al.* Chromosomal assignment of human cytochrome P-450 (debrisoquine / sparteine type) to chromosome 22 // Br. J. Clin. Pharmacol. 1987. V. 23. N 4. P. 455–458.
- Ford J.G., Ly Y., O'Sullivan M.M. *et al.* Glutathione S-transferase M1 polymorphism and lung cancer risk in African-Americans // Carcinogenesis. 2000. V. 21. N 11. P. 1971–1975.
- Frova C. Glutathione transferases in the genomics era: New insights and perspectives // Biomol. Engineering. 2006. V. 23. P. 149–169.
- Gaikovitch E.A., Cascorbi I., Mrozikiewicz P.M. *et al.* Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP1A1*, *NAT2* and of P-glycoprotein in a Russian population // Eur. J. Clin. Pharmacol. 2003. V. 59. P. 303–312.
- Gajeckaa M., Rydzanicza M., Jaskula-Sztula R. *et al.* *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *NAT2*, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of the laryngeal squamous cell carcinoma // Mutat. Res. Fundamental and Mol. Mechanisms of Mutagenesis. 2005. V. 574. Issue 1/2. P. 112–123.
- Gawronska-Szklarz B., Wojcicki M., Kuprianiowicz A. *et al.* *CYP2D6* and *GSTM1* genotypes in a Polish population // Eur. J. Clin. Pharmacol. 1999. V. 55. N 5. P. 389–392.
- Geisler S.A., Olshan A.F. *GSTM1*, *GSTT1*, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: A Mini-HuGE Review // Am. J. Epidemiol. 2001. V. 154. N 2. P. 95–105.
- Gonzalez F.J., Vilbois F., Hardwick J.P. *et al.* Human debrisoquine 4-hydroxylase (P450 IID1): cDNA and

- deduced amino acid sequence and assignment of the *CYP2D* locus to chromosome 22 // *Genomics*. 1988. V. 2. N 2. P. 174–179.
- Gresner P., Gromadzinskaa J., Wasowicza W. Polymorphism of selected enzymes involved in detoxification and biotransformation in relation to lung cancer // *Lung Cancer*. 2007. V. 57. Issue 1. N 1. P. 1–25.
- Habdous M., Siest G., Herbeth B. *et al.* Glutathione S-transferases genetic polymorphisms and human diseases: overview of epidemiological studies // *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. 2004. V. 62. N 1. P. 15–24.
- Joseph T., Kusumakumary P., Chacko P. *et al.* Genetic polymorphism of *CYP1A1*, *CYP2D6*, *GSTM1* and *GSTT1* and susceptibility to acute lymphoblastic leukaemia in Indian children // *Pediatr. Blood Cancer*. 2004. V. 43. N 5. P. 560–567.
- Karafet T.M., Osipova L.P., Gubina M.A. *et al.* High levels of Y chromosome differentiation among Native Siberian populations and the genetic signature of a boreal hunter-gatherer way of life // *Hum. Biol.* 2002. V. 16. P. 702–722.
- Keen J.H., Jakoby W.V. Glutathione transferases catalysis of nucleophilic reactions of glutathione // *J. Biol. Chem.* 1978. V. 253. N 16. Issue 25. P. 5654–5657.
- Kempkes M., Golka K., Reich S. *et al.* Glutathione S-transferase *GSTM1* and *GSTT1* null genotypes as potential risk factors for urothelial cancer of the bladder // *Arch. Toxicol.* 1996. V. 71. Issue 1/2. P. 123–126.
- Legrand-Andreolletti M., Stucker I., Marez D. *et al.* Cytochrome P450 *CYP2D6* gene polymorphism and lung cancer susceptibility in Caucasians // *Pharmacogenetics*. 1998. V. 8. N 1. P. 7–14.
- London S.J., Daly A.K., Leathart J.B. *et al.* Genetic polymorphism of *CYP2D6* and lung cancer risk in African-Americans and Caucasians in Los Angeles County // *Carcinogenesis*. 1997. V. 18. N 6. P. 1203–1214.
- Marandi T., Dahl M.-L., Rago L. *et al.* Debrisoquine and S-mephenytoin hydroxylation polymorphisms in a Russian population living in Estonia // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1997. V. 53. P. 257–260.
- McLellan R.A., Oscarson M., Alexandrie A.-K. *et al.* Characterization of a human glutathione S-Transferase μ cluster containing a duplicated *GSTM1* Gene that causes ultrarapid enzyme activity // *Mol. Pharmacol.* 1997. V. 52. N 6. P. 958–965.
- Qin S., Shen L., Zhang A. *et al.* Systematic polymorphism analysis of the *CYP2D6* gene in four different geographical Han populations in mainland China // *Genomics*. 2008. V. 92. P. 152–158.
- Rowland P., Blaney F.E., Smyth M.G. *et al.* Crystal structure of human cytochrome P450 2D6 // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. N 11. P. 7614–7622.
- Ryu S.W., Kim Y.J., Kim E. Mutation analysis of *CYP2D6* locus in the Korean population: identification of rare poor metabolizer alleles at the nucleotide level // *Mol. Cells*. 1998. V. 8. N 6. P. 758–763.
- Sachse C., Brockmoller J., Bauer S., Roots I. Cytochrome P450 2D6 in a Caucasian population: Allele frequencies and phenotypic consequences // *Am. J. Hum. Genet.* 1997. V. 60. P. 284–295.
- Seidegard J., Pero R.W., Markowitz M.M. *et al.* Isoenzyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow up study // *Carcinogenesis (London)*. 1990. V. 11. P. 33–36.
- Seidegard J., Vorachek W.R., Pero R.V., Pearson W.R. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilben oxide are due to a gene deletion // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1988. V. 85. P. 7293–7297.
- Setiawan V.W., Zhang Z.F., Yu G.P. *et al.* *GSTT1* and *GSTM1* null genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study in a Chinese population // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000. V. 9. N 1. P. 73–80.
- Shaw G.L., Falk R.T., Frame J.N. *et al.* Genetic polymorphism of *CYP2D6* and lung cancer risk // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1998. V. 7. N 3. P. 215–219.
- Shi X., Zhou S., Wang Z., Zhou I. *CYP1A1* and *GSTM1* polymorphisms and lung cancer risk in Chinese populations: a meta-analysis // *Lung Cancer*. 2008. V. 59. N 2. P. 155–163.
- Silveira V., Canalle R., Scridili C.A. *et al.* Role of the *CYP2D6*, *EPHX1*, *MPO*, and *NQO1* genes in the susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in Brazilian children // *Environ. Mol. Mutagen.* 2010. V. 51. N 1. P. 48–56.
- Strange R.C., Matharoo B., Faulder G.C. *et al.* The human glutathione S-transferases: a case-control study of the incidence of the *GSTT1* 0 phenotype in patients with adenocarcinoma // *Carcinogenesis*. 1991. V. 12. P. 25–28.
- Sukernik R.I., Karaphet T.M., Osipova L.P. Distribution of blood groups, serum markers and red cell enzymes in two human populations from Northern Siberia // *Hum. Hered.* 1978. V. 28. N 5. P. 321–327.
- Tamer L., Calikoglu M., Ates N.A. *et al.* Glutathione-S-transferase gene polymorphisms (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*) as increased risk factors for asthma // *Respirology*. 2004. V. 9. P. 493–498.
- Tew M.B., Reveille J.D., Arnett F.C. *et al.* Glutathione S-transferase genotypes in systemic sclerosis and their association with clinical manifestations in early disease // *Genes and Immunity*. 2001. V. 2. P. 236–238.
- Timofeeva M., Jager B., Rosenberg A. *et al.* A multiplex real-time PCR method for detection of *GSTM1* and *GSTT1* copy number // *Clin. Biochem.* 2009. V. 42. P. 500–509.
- Webb G., Vaska V., Coggan M., Board P. Chromosomal localization of the gene for the human theta class

- glutathione transferase (*GSTT1*) // Genomics. 1996. V. 33. N 1. P. 121–123.
- Xu S., Wang Y., Roe B. *et al.* Characterisation of the human class Mu glutathion S-transferase gene cluster and the *GSTM1* deletion // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. N 6. P. 3517–3527.
- Yadav S.S., Ruwali M., Pant M.C. *et al.* Interaction of drug metabolizing cytochrome P450 2D6 poor metabolizers with cytochrome P450 2C9 and 2C19 genotypes modify the susceptibility to head and neck cancer and treatment response // Mutat. Res. Fundamental. and Mol. Mechanisms of Mutagenesis. 2010. V. 684. Issue 1/2. P. 49–55.
- Zanger U.M., Raimundo S., Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry // Naunin-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 2004. V. 369. P. 23–37.
- Zhong S., Wyllie A.H., Barnes D. *et al.* Relationship between the *GSTM1* genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer // Carcinogenesis. 1993. V. 14. P. 1821–1824.
- Zhou S.F. Polymorphism of human Cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I // Clin. Pharmacogenet. 2009. V. 48. N 11. P. 689–723.

POLYMORPHISM OF GENES FOR XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION, *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP2D6*, CANDIDATE MARKERS OF CANCER RISK, IN INDIGENOUS PEOPLES AND RUSSIANS IN NORTHERN SIBERIA

R.P. Korchagina¹, L.P. Osipova¹, N.A. Vavilova¹, N.A. Ermolenko²,
E.N. Voronina², M.L. Filipenko²

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: kruosana@mail.ru, ludos@bionet.nsc.ru, senk_off@mail.ru;

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: kostrykina@gmail.com, voronina_l@mail.ru, max@niboch.nsc.ru

Summary

The *CYP2D6*, *GSTM1*, and *GSTT1* genes, controlling biotransformation of xenobiotics, are involved in tumor formation due to the presence of mutant variants able to slow down and arrest their expression. The rate of cancer disease morbidity in human populations, including indigenous people of Siberia, has been increasing since the middle of the 20th century. The problem of ethnical differences in tumor susceptibility remains relevant. The first study of polymorphisms of the *CYP2D6* (alleles *CYP2D6*3* and *CYP2D6*4*), *GSTM1*, and *GSTT1* (*GSTM1 0/0* and *GSTT1 0/0* genotypes) in practically healthy Samoyedic people (Selkups, Forest Nenets and Nganasans) and Russian residents of Siberia is reported. The results are compared with reported data on Mongoloid peoples of China. The study reveals a significant variability of *CYP2D6*4* and *GSTM1 0/0* frequencies in Northern populations. In contrast, the frequencies of *CYP2D6*3* and *GSTT1 0/0* variants do not differ significantly in the indigenous populations of Selkups, Forest Nenets, and Nganasans. The indigenous populations occupy an intermediate position between Siberian Russians and Chinese Mongoloids with respect to *CYP2D6*4* allele frequencies. However, the frequencies of «null» genotypes *GSTM1 0/0* and *GSTT1 0/0* in indigenous people are significantly lower than in Siberian Russians or the Chinese group ($p < 0, 05$). In general, the risk of tumors in indigenous Samoyedic peoples is expected to be lower than in Siberian Russians. An exception is the population of Forest Nenets, where an elevated frequency of the *GSTM1 0/0* genotype has been detected. It may be determined by the peculiarity of their marriage structure and the elevated inbreeding coefficient. The results can be used in prediction of complication probability and response to pharmaceuticals metabolized by the *CYP2D6*, *GSTM1*, and *GSTT1* enzymes.

Key words: indigenous peoples of Northern Siberia, genes for xenobiotic biotransformation, real-time PCR, *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *GSTT1 0/0*, *GSTM1 0/0*.