

GSTT1 генийн делецийг илрүүлсэн дүн

Б.Оюундарь¹, Х.Мөрөнгүя², Ж.Тэмүүжин², М.Наранхажид¹, Б.Очирхуяг², Ж.Хулан²

¹АШУУИС, Био-АС, Биологийн тэнхим

²Монгол Улсын Их Сургууль, ШУС, Биологийн тэнхим

Цахим шуудан: khulan@num.edu.mn, Утас: 96643003

Түлхүүр үг:

GSTT1 ген
Нойл генотип
Глутатион
S-трансфераза

Товч утга: Глутатион S-трансфераза нь эсийн метаболизм болон исэлдэлтийн стрессээс үүссэн олон төрлийн хортой ксенобиотикүүд, электрофилик нэгдлүүдийг хоргүйжүүлэх үүрэгтэй, метаболизмын фаз II-д оролцдог бүлэг энзимүүд юм. *GSTT1* генийн гомозигот делецийн үед дээрх энзимүүд нь идэвхээ бүрэн алдсан байх тул соматик мутаци үүсэж, улмаар хавдар болох эрсдэлийг нэмэгдүүлж байж болзошгүй гэж үздэг. Иймд тухайн генийн кодогдог энзим идэвхгүй буюу нийлэгжихгүй, дутагдалтай болох тул ихээхэн анхааран судалдаг. *GSTM1*, *GSTT1* генийн делецийг бөөр, уушги, түрүү булчирхай, хөх, ходоод, улаан хоолой, бүдүүн нарийн гэдэсний хавдартай холбон судалсан судалгааны ажлууд нилээдгүй байна. Бид уг судалгаандаа Улаанбаатар хотын хүний популяцид *GSTT1* генийн делецийн тархац хэрхэн илэрч байгааг судлахаар зорилоо. Судалгаандаа санамсаргүй түүврийн аргаар 100 хүний цусны дээжийг цуглуулан геномын ДНХ-г ялгаж, *GSTT1* генийн делецийг ПГУ-аар тодорхойлов. Энэхүү судалгаагаар судалгаанд хамрагдсан нийт хүмүүсийн 40 хувьд *GSTT1* генийн делеци илэрлээ.

Үндэслэл: Орчин үеийн шинжлэх ухаанд хавдрын өвчлөлийг эсийн эпигенетик модификаци болон хүрээлэн буй орчны бохирдолт, хооллолттой холбон судлах болсон¹. Глутатион S-трансфераза эсийн метаболизм болон исэлдэлтийн стрессээс үүссэн олон төрлийн хортой ксенобиотикүүд, электрофилик нэгдлүүдийг хоргүйжүүлэх үүрэгтэй, метаболизмын фаз II-д оролцдог бүлэг энзимүүд юм²⁻⁴. Хүний популяцид *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* бүлгийн ферментийн мэдээллийг нөхцөлдүүлдэг генийн олон хэлбэршил түгээмэл тохиолддог байна⁵⁻⁶. Мутацид орсон *GSTT1* генийн хувилбарыг гомозигот хэлбэрээр агуулсан хэв шинжид эдгээр ферментийн идэвхи бүрэн алдагдсан байдаг, иймээс эдгээр хувилбаруудыг орчны болон ажил мэргэжлээс шалтгаалсан бохирдлоос хамаарсан эмгэгийн эрсдэлийг илрүүлэхэд генетик маркер болгон ашиглахад нэн тохиромжтой, учир нь судлагдахуун популяцийг эмгэг үүсгэгч - эмгэг шинжийн хамаарлыг тогтоох боломжтой маш тодорхой хоёр бүлэгт ангилж ажиглах боломжийг олгодог⁷⁻⁹. Мөн түүнчлэн давсаг, төмсөг, түрүү булчирхай, уушги, гүйлсэн булчирхай, хөхний өмөнтэй холбож судалсан судалгаа шинжилгээний ажил ихээхэн хийгдсэн байна¹⁰. Уг боломжинд үндэслэн *GSTT1* генийн олон хэлбэршлийг маш олон судалгаанд өргөнөөр ашигладаг. Ялангуяа *GSTT1* генийн гомозигот

делецийн үед дээрх энзимүүд нь идэвхээ бүрэн алдсан байх тул соматик мутаци үүсэж, улмаар хавдар болох эрсдэлийг нэмэгдүүлж байж болзошгүй гэж үздэг. Иймд тухайн генийн кодогдог энзим идэвхгүй буюу нийлэгжихгүй, дутагдалтай болох тул ихээхэн анхааран судлагддаг. Харин манай оронд GST генийн полиморфизмыг уул уурхайн ажилчид болон умайн хүзүүний хавдартай өвчтөнүүдийн дунд, мөн *GSTM1*, *GSTT1* генийн гетерозигот хэвшлийн давтамжийг тогтоох зэрэг судалгаанууд хийгдсэн байна. Мөн *GSTM1*, *GSTT1* генийн делецийг бөөр, уушги, түрүү булчирхай, хөх, ходоод, улаан хоолой, бүдүүн нарийн гэдэсний хавдартай холбон судалсан судалгаа байна. Ийм бид энэхүү судалгаагаараа Улаанбаатар хотын хүний популяцид *GSTT1* генийн делецийн тархац хэрхэн илэрч байгааг судлах шаардлагатай гэж үзсэн.

Зорилго: Улаанбаатар хотын хүний популяцид *GSTT1* генийн делецийн тархац хэрхэн илэрч байгааг судлах

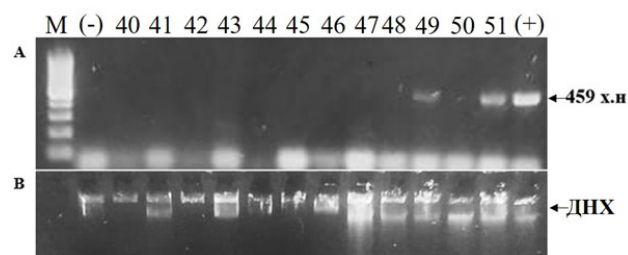
Зорилт:

1. Геномын ДНХ-г фенол-хлороформын аргаар ялгах
2. *GSTT1* генийн нойл делецийг ПГУ-ыг ашиглан илрүүлэх

Арга, аргачлал: Улаанбаатарт оршин суугчдаас сайн дурын үндсэн дээр, таниулсан зөвшөөрлийн хуудастай танилцуулсны дараа 100 хүнээс сорьцыг цуглуулав. Геномын ДНХ-г фенол-хлороформын аргаар ялгав. ДНХ-ийн концентрац ба цэвэршилтийг спектрофотометрээр шалгахад OD 260/280, 260/230 байгааг цаашдын судалгаанд ашиглав.

Арех компанийн 2.0xTaq RED (1.5mM MgCl₂) ПГУ –ын худалдааны цомгийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ашигласан. Урвалын нийт эзлэхүүн 20 мкл: мастер микс 10 мкл, праймер (10 пмоль) тус бүрээс 1мкл, ДНХ 1,5 мкл, үлдсэнд нь нэрмэл ус хийн уусгаж явуулав. ПГУ-ын урвалын нөхцөлийг преденатураци 94°C-д 4мин, 32цикл: 95°C-д 1мин, 58°C-д 1мин, 72°C-д 10мин, сүүлийн уртсах шат 72°C-д 6 минутанд тохируулан (ArktikTM Thermal Cycler, Thermo fisher) олшрууллаа. ПГУ бүтээгдэхүүнийг 1.6%-ийн агарозын гель-электрофорезоор 1xTBE ашиглан 100В-д 20 минут гүйлгэж, гель электрофорезийн зургийг авч үр дүнг баталгаажуулав.

Үр дүн: Судалгаанд сайн дурын 100 хүн хамрагдав. Хүйсийн харьцаа эмэгтэй-64 хүн, эрэгтэй-26 хүн. Зураг 1-ээр ПГУ явуулсан үр дүнг агароз гель электрофорез гүйлгэн жишээ болгон харуулав. Зураг 1-ээс харахад 12 сорьц гүйлгэсний 49, 51-р сорьцонд 459 х.н. бүхий *GSTT1* генийн ДНХ-ийн хэрчим олширсон байна. 40-48, 50-р сорьцонд ДНХ-ийн хэрчим үүсээгүй болох нь харагдаж байна. Судалгаанд хамрагсдын насны бүлгийн авч үзэхэд 18-78 насны хүмүүс хамрагдсан. Бидний судалгаагаар *GSTT1* генийн делеци-40% тодорхойлогдов.



Зураг 1. 40-51 сорьцуудаас *GSTT1* генийн ДНХ-ийг ПГУ –аар илрүүлсэн дүн.

А. М-Хэмжээ тогтоогуур, 40-51-р дээж, (-) сөрөг хяналт, (+) эерэг хяналт
В: Геномын ДНХ

Судалгаагаар *GSTT1* генийн делеци 40% байв. Генотипын давтамжийг хүснэгт 1-т харуулав.

Хүснэгт 1. *GSTT1* генийн генотипын давтамж

Популяци	Сорьцийн хэмжээ	+/+	+0	0/0
Улаанбаатар	100	0.3721	0.4758	0.1521

Хэлцэмж: ДЭМБ-ын 2018 оны статистик мэдээгээр дэлхий дээр 18 сая хүн хорт хавдраар өвчилж, 9.5 сая хүн хорт хавдрын шалтгааны улмаас нас барж байна. Мөн эмийн зохисгүй хэрэглээ, хүнсний аюулгүй байдал тухайлбал пестицид, гербицидэд тэсвэртэй мөн генийн өөрчлөлттэй хүнсний бүтээгдэхүүн, хүнсний зохисгүй хэрэглээ, орчны бохирдол зэрэг олон хүчин

зүйлээс шалтгаалж бид аюултай нөхцөл байдалд амьдарсаар байна. *GSTT1* ген нь элгэнд нийлэгждэг ба 0/0 делеци нь чихрийн шижингийн үед бөөр гэмтэх, зарим хорт хавдраар өвчлөх эрсдэлийг нэмэх, эмэгтэйчүүдийн өвчин, сэтгэцийн өвчний шалтгаан болно². Атоп дерматиттай хүүхдүүдэд *GSTT1* генийн 0/0 генотип тодорхойлогддог^{3,4}. *GSTT1* нойл генотиптай хүмүүст экологи болон эндоген канцерогенийг хоргүйжүүлэх чадвар буурснаар миелодиспластик синдром (МДС) үүсэх эрсдэл ихэсдэг⁸. *GSTM1*+/+ и *GSTT1*-/- генотиптай өвчтөнүүдийн амьдрах чадвар бага байсан (p=0,02). *GSTT1* -/- генотиптай COVID-19-өөр өвчилсөн өвчтөнүүдийн үхэл өндөр байсан⁵.

Бидний судалгаагаар Улаанбаатар хотын оршин суугчдын *GSTT1* генийн аллелийн давтамж (мажор) p=0.6 (минор) q=0.16 байсан. Senthilkumar Pichalu нарын 2015 онд хэвлүүлсэн өгүүллийн хүснэгтэд олон үндэстний аллелийн давтамж 0.193-0.496 хооронд хэлбэлзэж байна (хүснэгт 2). Бидний судалгаагаар *GSTT1* 0/0 генотипын давтамж 0.400 байв (Хүснэгт 2).

Хүснэгт 2. Олон үндэстний аллелийн давтамжийг харуулсан хүснэгт

Газарзүйн бүс	GSTT1 (0/0)		Ишлэл
	Давтамж	Дээжний тоо	
I.Зүүн Ази			
Япон	0.476	7875	10
Солонгос	0.496	1518	10
Хятад	0.443	2355	10
Монгол	0.400	100	
II. Зүүн өмнөд Ази			
Вьетнам	0.300	100	22
Филифин	0.333	60	23
Индонез	0.414	162	24
Сингапур-Малай	0.383	167	25
III. Зүүн Европ			
Орос	0.193	352	42

Тайлбар: Бид өөрсдийн үр дүнгээ уг хүснэгтэд оруулж тодруулсан болно.

GSTT1 нойл генотип нь хүйс насны хамааралгүй байсан ба ойролцоогоор 16±40% илэрч байв⁶. Нойл генотипын тархалт Хятадуудад хамгийн их байсан ба 64.4%, удаах нь Солонгосчууд 60.2%, африк гаралтай Америкчуудад 21.8%, кавказчуудад 20.4%, мексик гаралтай Америкчуудад хамгийн бага 9.7% байв⁷.

Монгол улсад жилд дунджаар 4000 гаруй хүн хавдрын улмаас нас барж байна (Монцэмэ, 2018). Олон өгүүллээс харахад гадаад орчны таагүй хүчин зүйл *GSTT1* генийн делеци нь хорт хавдар болон бусад олон хүнд өвчин үүсэх хүчин зүйл болж байгаа талаар мэдээлсэн байна. Судалгаандаа хавдарын оноштой 60 өвчтөний цусны дээжийг цуглуулан геномын ДНХ-г ялгаж, *GSTT1*, *GSTT1* генийн делецийг мультиплекс ПГУ-аар тодорхойлов. Д.Энхгэрэл нарын судалгаагаар хорт хавдартай хүмүүсийн дунд *GSTT1* генийн делеци

26.7% гарсан¹⁰. Иймд бид ард иргэдээ хорт хавдар болон бусад олон өвчнөөс урьдчилан сэргийлэхийн тулд *GSTT1* нойл генотипын оношилгоог эмнэлэгт нэвтрүүлэх нэн шаардлагатай байна.

Дүгнэлт:

1. Глутатион S-трансфераза Тета 1 генийн судалгааг Улаанбаатар хотын популяцид хийхэд нойл генотип 100 хүний 40-д (40%) илэрлээ.
2. Глутатион S-трансфераза Тета 1 генийн судалгааг Улаанбаатар хотын популяцид хийхэд нойл генотип судалгаанд хамрагсдын 40 хувьд илэрлээ.

Ном зүй:

1. Sharma, Anita et all Genetic Polymorphisms of *GSTM1* and *GSTT1* Genes in Delhi and Comparison with other Indian and Global Population sAsian Pacific Journal of Cancer Prevention Volume 13 Issue 11 Pages.5647-5652/2012 1513-7368
2. Кубанов А. А., И. В. Кошелева, М. В. Немцова, Л. И. Шадыжева Immunity indices in patients with atopic dermatitis with different polymorphisms in glutathione S-transferase genes Medical Journal 2017-05-17 ISSN1560-5175
3. Ляпунова А. А. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз M1 и T1 у детей с atopическим дерматитом. Дис. ... к.м.н. Новосибирск, 2004. С. 26, 66–67
4. Беляева Л. М., Панулина Н. И., Микельчик Н. В. и др. Дифференциально-диагностические признаки изолированных и сочетанных форм atopических болезней у детей // Репродуктивное здоровье в Беларуси. 2010. № 5. С. 7.
5. Mohammad Abbas^{1,2}, Sushma Verma¹, Shrikant Verma¹, Sahabja-

da Siddiqui³, Faizan H Khan⁴, Syed T Raza³, Zeba Siddiqui⁵, Ale Eba³, Farzana Mahdi¹ s Association of *GSTM1* and *GSTT1* gene polymorphisms with COVID-19 susceptibility and its outcome J Med Virol. 2021 Sep;93(9):5446-5451.

6. Wchen H D. P Sandler J.A Taylor D.ABell D. LShore ELiu C.D Bloomfield C.D Bloomfield D.P Sandler ELiu Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (*GSTT1*) gene defect. Volume 347, Issue 8997, 3 February 1996, Pages 295-297
7. Heather H. Nelson, John K. Wiencke, David C. Christiani, T.J. Cheng, Zheng-Fa Zuo, Brian S. Schwartz, Byung-Kook Lee, Margaret R. Spitz, Min Wang, XiPing Xu Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta Carcinogenesis, Volume 16, Issue 5, May 1995, Pages 1243–1246, <https://doi.org/10.1093/carcin/16.5.1243>
8. Chen I.H.W., D.P Sandler J.A Taylor D. Abell D.L Shore Eliu C.D Bloomfield C.D Bloomfield D.P Sandler ELiu⁶ *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphisms, breast cancer risk factors and mammographic density in women submitted to breast cancer screening June 2012. Revista Brasileira de Epidemiologia 15(2):246-55. DOI:10.1590/S1415-790X2012000200002
9. Aguiar ES, Giacomazzi J, Schmidt AV, Bock H, Saraiva-Pereira ML, Schuler-Faccini L, Duarte Filho D, Santos PA, Giugliani R, Caleffi M, Camey SA. *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphisms, breast cancer risk factors and mammographic density in women submitted to breast cancer screening. Revista Brasileira de Epidemiologia. 2012;15:246-55.
10. D.Enkhgerel, J.Temuujin, B.Ochirkhuyag, J.Khulan. Detection of glutathione s-transferase m1, t1 gene deletions among cancer patients in mongolian. Proceedings of the Mongolian Academy of Sciences Vol. 59 No 04(232) 2019 <https://www.mongoliajol.info/index.php/PMAS/article/view/1293>

Determination of *GSTT1* gene deletion

Oyundari B¹, Murungya Kh², Temuujin J², Narankhajid M¹, Ochirhuayg B², Khulan J²

¹Department of Biology, Mongolian National University of Medical Sciences

²Department of Biology, National University of Mongolia

E-mail: khulan@num.edu.mn, Tel: +976 96643003

Human glutathione S-transferases (GSTs) are a functionally diverse family of soluble enzymes of detoxification that use reduced glutathione (GSH) in conjugation and reduction reactions. *GSTT1* null deletion of gene represent of result is a loss of enzymatic activity. And it is proceed from somatic mutation also it may effects to cancer. There have *GSTM1*, *GSTT1* genotypes deletion risk factor of kidney, lung, prostate, breast, stomach, esophagus, large intense, small intense cancers so many published case control. In the present study, we report to include how Ulaanbaatar city population spreading of *GSTT1* genetic deletion. We were unable effectively to assess such an association based upon such limited data available. In current study, we use random analysis in 100 people blood tissue in DNA genome, and *GSTT1* gene deletion by PCR reactions. This study included a deletion of the *GSTT1* gene, which was found in 40% of Mongolians living in Ulaanbaatar.

Keywords: *GSTT1* gene, null genotype, glutathione S-transferase