



МЕЖЛОКУСНЫЙ АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГЕНОВ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗ СО СТАРЕНИЕМ И ДОЛГОЛЕТИЕМ

¹Петинцева А.А., ²Насибуллин Т.Р., ²Туктарова И.А., ²Тимашева Я.Р., ²Эрдман В.В.

¹Башкирский государственный университет, Россия, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди 32

²Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября 71

E-mail: anna_petinseva@mail.ru

Резюме

С целью поиска предикторов старения и долголетия на выборке жителей Республики Башкортостан, включающей 1592 человека в возрасте от 18 до 109 лет, изучен характер межлокусных взаимодействий генов *SOD1* и *SOD2*. Установлено снижение шансов достижения долголетия среди носителей сочетания генотипа *SOD2*rs4880*TT* и аллеля *SOD1*rs2070424*G* ($OR=0.33$, $P_{OR}=0.02$, $SF=0.27$, $P_{SF}=0.046$ для лиц пожилого возраста и $OR=0.31$, $P_{OR}=0.01$, $SF=0.28$, $P_{SF}=0.041$ для лиц старческого возраста), а также генотипов *SOD2*rs4880*TT* и *SOD1*rs2070424*GA* ($OR=0.32$, $P_{OR}=0.01$, $SF=0.29$, $P_{SF}=0.043$ для лиц старческого возраста). Найденные сочетания аллелей/генотипов, ассоциированные с низкой активностью Cu/Zn-SOD и Mn-SOD, имеют синергический характер взаимодействия и неблагоприятны в отношении достижения возраста долголетия.

Ключевые слова: долголетие, старение, супероксиддисмутаза 1, ген *SOD1*, супероксиддисмутаза 2, ген *SOD2*, полиморфный маркер, фактор синергии, анализ ассоциаций

Цитирование: Петинцева А.А., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Тимашева Я.Р., Эрдман В.В. Межлокусный анализ ассоциаций полиморфных маркеров возраст-ассоциированных заболеваний генов супероксиддисмутаза со старением и долголетием // *Biomics*. 2023. Т.15(1). С.48-53. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-7

© Авторы

INTERLOCUS ANALYSIS OF ASSOCIATIONS OF POLYMORPHIC MARKERS OF AGE-ASSOCIATED DISEASES OF SUPEROXIDE DISMUTASE GENES WITH AGING AND LONGEVITY

¹Petinseva A.A., ²Nasibullin T.R., ²Tuktarova I.A., ²Timasheva Y.R., ²Erdman V.V.

¹Bashkir State University, 32 Zaki Validi Str., 450076, Ufa, Russia

²Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 71 Pr. Oktyabrya, 450054, Ufa, Russia

E-mail: anna_petinseva@mail.ru

Resume

With the purpose to search for predictors of aging and longevity we studied the pattern of the *SOD1* and *SOD2* genes polymorphic loci interaction in a sample of residents of the Republic of Bashkortostan,

including 1592 individuals in age between 18 and 109 years old. We discovered the reduction of the chances to become the long-liver among carriers of the combination of *SOD2*rs4880*TT* genotype and *SOD1*rs2070424*G* allele (OR=0.33, P_{OR}=0.02, SF=0.27, P_{SF}=0.046 for elderly people and OR=0.31, P_{OR}=0.01, SF=0.28, P_{SF}=0.041 for old seniors), as well as of the *SOD2*rs4880*TT* and *SOD1*rs2070424*GA* genotypes combination (OR=0.32, P_{OR}=0.01, SF=0.29, P_{SF}=0.043 for the elderly people). The found alleles/genotypes combinations, which associated with the low activity of Cu/Zn-SOD and Mn-SOD, have a synergistic pattern of interaction and are unfavorable for the attainment the longevity.

Keywords: longevity, aging, superoxide dismutase 1, *SOD1* gene, superoxide dismutase 2, *SOD2* gene, polymorphic marker, synergy factor, association analysis

Citation: Petintseva A.A., Nasibullin T.R., Tuktarova I.A., Timasheva Y.R., Erdman V.V. Interlocus analysis of associations of polymorphic markers of age-associated diseases of superoxide dismutase genes with aging and longevity. *Biomics*. 2023. V.15(1). P. 48-53. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-7 (In Russian)

© The Authors

Введение

Поиск ассоциаций генов со старением и долголетием является актуальным, поскольку предполагается, что геном долгожителей содержит аллели устойчивости к возрастной патологии. Одной из вероятных причин старения и развития возрастных заболеваний рассматривается дестабилизирующее действие активных форм кислорода (АФК) [Фомченко (Fomchenko), 2015]. Нейтрализацию большинства АФК еще до того, как они повредят клеточные структуры, осуществляет механизм антиоксидантной защиты. Одними из основных факторов защиты в клетках являются три формы ферментов супероксиддисмутаза, которые превращает супероксид-анионы в молекулярный кислород и пероксид водорода. На данный момент наиболее изученными являются две формы супероксиддисмутаза – цитоплазматическая (Cu/Zn-SOD) и митохондриальная (Mn-SOD), кодируемые, соответственно, генами *SOD1* и *SOD2*.

Обнаружены ассоциации полиморфных локусов гена *SOD1* с сердечно-сосудистыми, нейродегенеративными, онкологическими заболеваниями [Otake et al., 2016, Liu et al., 2019, El-Kheshen et al., 2016]. Так, у носителей аллеля *SOD1*rs2070424*G* возрастает риск развития возрастных патологий обмена веществ: сахарного диабета второго типа у индусов [Haldar et al., 2015], ожирения у мексиканцев [Hernandez-Guerrero et al., 2016]. Полиморфный маркер rs4880 гена *SOD2* ассоциирован с онкологическими заболеваниями [Blein et al., 2014], ишемической болезнью сердца у женщин [Jones et al., 2010], болезнью Паркинсона [Liu et al., 2019]. Аллель *SOD2*rs4880*C* оказывает защитное действие в отношении развития сахарного диабета второго типа [Tian et al., 2011].

Таким образом, ассоциация полиморфных локусов генов *SOD1* и *SOD2* с патологиями, развивающимися с возрастом, является предпосылкой к разработке исследований вовлеченности данных генов в формирование старческого фенотипа. Более того, работы с модельными объектами показали, что сверхэкспрессия ферментов *SOD1* и *SOD2* способствует увеличению выживаемости на 30% [Fabrizio et al., 2003]. Это позволяет рассматривать структурно-функциональные особенности генов супероксиддисмутаза в качестве маркеров высокоадаптивного фенотипа долгожителя.

Цель исследования заключалась в поиске предикторов старения и долголетия среди мужчин и женщин путем анализа характера межлокусных взаимодействий полиморфных маркеров возраст-ассоциированных заболеваний в генах *SOD1* и *SOD2*.

Материалы и методы

Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения медико-биологических исследований с участием человека в качестве субъекта, закрепленными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association, 2013). Исследование было одобрено комитетом по биоэтике ИБГ УФИЦ РАН. Все обследуемые лица дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Выборка была сформирована из населения Волго-Уральский региона России и включала 729 мужчин и 863 женщины (всего 1592 человека) в возрасте от 18 до 109 лет. Общую группу дифференцировали по возрасту с учетом классификации, приведенной в книге [Хрисанфова (Khrisanfova), 1999] (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика исследуемой выборки / Table 1 - Characteristic of studied group

Возрастной период (Age group)	Возрастной диапазон, лет (Age range, years old)	Объем группы (Sample size), n	Средний возраст ± s, лет (Mean age ± s, years old)	Мужчины/женщины (Male/Female), n (%)
Средний (Middle-aged)	18-55 (18 - 60 для мужчин/ for men)	458	36.82±11.08	338/120 (73.8/26.2)
Пожилой (Elderly)	56 -74(61 - 74 для мужчин / for men)	309	67.53±4.98	93/216 (30.1/69.9)
Старческий (Oldseniors)	75-89	638	80.67 ±3.77	264/374 (41.38/58.62)
Долгожители (Long-livers)	90- 109	187	93.09±3.01	34/153 (18.18/81.82)
Общая группа (Total)	18-109	1592	67.13±21.38	729/863 (45.79/54.21)

Примечание: n – объем группы, s – стандартное отклонение
 Note: n – sample size, s – standard deviation

Образцы ДНК получены из 8 мл периферической венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Аллельные варианты полиморфных сайтов генов rs2070424*SOD1 и rs4880*SOD2 определяли методом аллель-специфичной ПЦР с последующим электрофоретическим анализом. Олигонуклеотидные последовательности подобраны с помощью приложения PrimerSelect 5.05 из пакета программы DNASTar Inc.

Статистическую обработку результатов генотипирования проводили в программе SPSS (V.21.0). Поиск информативных сочетаний проводили с использованием программы APSampler (v.3.6.1) [Favorov et al., 2009]. Для оценки характера межлокусного взаимодействия применяли процедуру, описанную в [Cortina-Vorja et al., 2009].

Результаты и обсуждение

Сочетания генотипов и аллелей, ассоциированные с долголетием, а также характер межлокусного взаимодействия, представлены на диаграммах (рис. 1). В общей выборке мы наблюдали

трехкратное снижение шансов встречаемости сочетания генотипа *SOD2*rs4880*TT* с аллелем *SOD1*rs2070424*G* среди долгожителей, причем как при сравнении с группой лиц пожилого возраста (OR=0.33, P_{OR}=0.02, 95% CI 0.11-0.99, рис. 1а), так и старческой группой (OR=0.31, P_{OR}=0.01, 95% CI 0.11-0.88, рис. 1б). При этом наблюдаемый совместный эффект генотипа *SOD2*rs4880*TT* и аллеля *SOD1*rs2070424*G* продемонстрировал синергический характер взаимодействия элементов найденных сочетаний (SF=0.27, P_{SF}=0.046, 95% CI 0.07-0.98 и SF=0.28, P_{SF}=0.041, 95% CI 0.09-0.95 при сравнении долгожителей с лицами пожилого и старческого возраста, рис. 1а и 1б соответственно). Также среди лиц старческого возраста, достигших долголетия, снижалась вероятность встречаемости сочетания генотипов *SOD2*rs4880*TT* и *SOD1*rs2070424*GA* (OR=0.32, P_{OR}=0.01, 95% CI 0.11-0.90); показатель синергии между генотипами почти в три раза превышал ожидаемый совместный эффект (SF=0.29, P_{SF}=0.043, 95% CI 0.09-0.96) (рис. 1в).

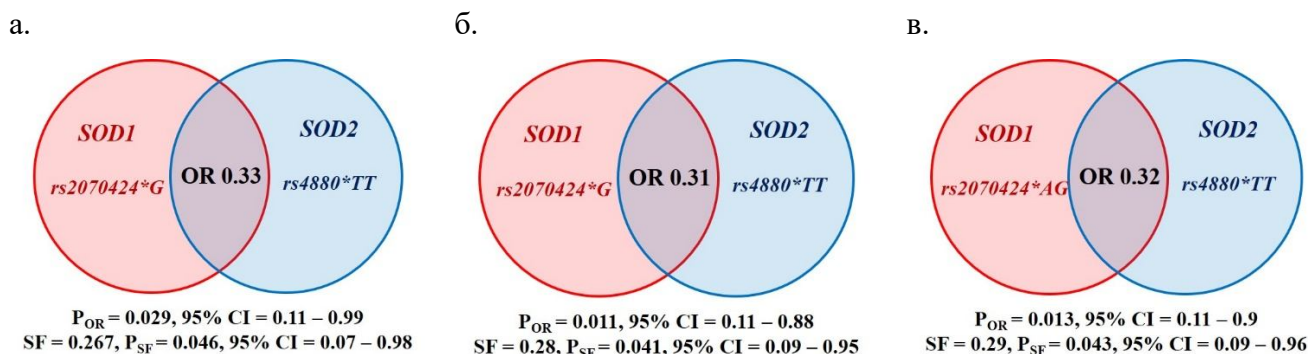


Рис. 1. Сочетания аллелей/генотипов, ассоциированные с долголетием
 Fig. 2. Combinations of alleles/genotypes associated with longevity

При подразделении общей выборки на мужчин и женщин не удалось установить межлокусные маркеры старения или долголетия, вероятно, в силу неоднородности численности возрастных групп.

Полученные результаты согласуются с данными о снижении уровня активности митохондриальной Mn-SOD у долгожителей [Andersen et al., 1998], так как для аллеля *SOD2*rs4880*C* показано увеличение активности фермента на 40% [Sutton et al., 2005]. Предполагается, что белок, кодируемый данным аллельным вариантом гена *SOD2*, 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 [Dato et al., 2014]. Ассоциация полиморфного варианта *SOD1*rs2070424*G* с более низкой активностью цитоплазматической формы Cu/Zn-SOD продемонстрирована при возраст-ассоциированных патологических фенотипах [Ściskalska et al., 2014]. Таким образом, носительство аллелей, ассоциированных с низкой активностью кодируемых ими ферментов супероксиддисмутаза, может формировать неблагоприятный в отношении адаптационных возможностей стареющего организма фон.

Заключение

Со снижением шансов достижения долголетия ассоциировано сочетание генотипа *SOD2*rs4880*TT* и аллеля *SOD1*rs2070424*G*, при этом показатель фактора синергии продемонстрировал положительный (взаимоусиливающий) характер межлокусного взаимодействия.

Грантовая поддержка.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке мегагранта Правительства Российской Федерации (№ 2020-220-08-2197) и НИР (№ государственной регистрации 122041400169-2). 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 "Агидель" и УНУ "КОДИНК".

Литература

1. Фомченко Н.Е., Воропаев Е.В., Скачков А.В., Затора Н.Ю. Биологическая роль митохондрий в старении организма // *Проблемы здоровья и экологии*. 2015. (4). С.8-13. DOI: 10.51523/2708-6011.2015-12-4-2
2. Хрисанфова Е.Н. Основы геронтологии (Антропологические аспекты). М.: Изд-во Владивосток. 1999. 151 с.

3. Andersen H.R., Jeune B., Nybo H., Nielsen J.B., Andersen-Ranberg K., Grandjean P. 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. DOI: 10.1093/ageing/27.5.643
4. Blein S., Berndt S., Joshi A.D., Campa D., Ziegler R.G., Riboli E., Cox D.G. NCI Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. Factors associated with oxidative stress and cancer risk in the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium // *Free Radical Research*. 2014. V.48(3). P.380–386. DOI: 10.3109/10715762.2013.875168
5. Cortina-Borja M., Smith A.D., Combarros O., Lehmann D.J. The synergy factor: a statistic to measure interactions in complex diseases // *BMC Res. Notes*. 2009. V.2(1). P. 105. doi: 10.1186/1756-0500-2-105
6. Dato S., Soerensen M., Lagani V., Montesanto A., Passarino G., Christensen K., Tan Q., Christiansen L. 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 // *Experimental gerontology*. 2014. V.52. P. 23–29. DOI: 10.1016/j.exger.2014.01.014
7. El-Kheshen G., Moeini M., Saadat M. Susceptibility to Ulcerative Colitis and Genetic Polymorphisms of A251G SOD1 and C-262T CAT // *Journal of Medical Biochemistry*. 2016. V. 35(3). P. 333–336. DOI: 10.1515/jomb-2016-0002
8. Fabrizio P., Liou L.L., Moy V.N., Diaspro A., Valentine J.S., Gralla E.B., Longo V.D. SOD2 functions downstream of Sch9 to extend longevity in yeast // *Genetics*. 2003. V. 163(1). P. 35–46. DOI: 10.1093/genetics/163.1.35
9. Favorov A.V., Andreevski T.V., Sudomoina M.A. et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // *Genetics*. 2005. V.171(4). P.2113-2121. DOI: 10.1534/genetics.105.048090
10. Haldar S.R., Chakrabarty A., Chowdhury S., Haldar A., Sengupta S., Bhattacharyya M. Oxidative stress-related genes in type 2 diabetes: association analysis and their clinical impact // *Biochemical Genetics*. 2015. V.53(4-6). P.93–119. DOI: 10.1007/s10528-015-9675-z
11. Hernandez-Guerrero C., Hernandez-Chavez P., Romo-Palafox I., Blanco-Melo G., Parra-Carriedo A., Perez-Lizaur A. 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 of Medical Research*. 2016. V.47(5). P.331–339. DOI: 10.1016/j.arcmed.2016.08.007

12. Jones D.A., Prior S.L., Tang T.S., Bain S.C., Hurel S.J., Humphries S.E., Stephens J.W. Association between the rs4880 superoxide dismutase 2 (C>T) gene variant and coronary heart disease in diabetes mellitus // *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2010. V.90(2). P.196–201. DOI: 10.1016/j.diabres.2010.07.009

13. Liu C., Fang J., Liu W. Superoxide dismutase coding of gene polymorphisms associated with susceptibility to Parkinson's disease // *Journal of Integrative Neuroscience*. 2019. V.18(3). P.299–303. DOI: 10.31083/j.jin.2019.03.127

14. Otaki Y., Watanabe T., Nishiyama S., Takahashi H., Arimoto T., Shishido T., Miyamoto T., Konta T., Shibata Y., Sato H., Kawasaki R., Daimon M., Ueno Y., Kato T., Kayama T., Kubota I. 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). e0164732. DOI: 10.1371/journal.pone.0164732

15. Ścisłalska M., Ołdakowska M., Marek G., Milnerowicz H. Changes in the Activity and Concentration of Superoxide Dismutase Isoenzymes (Cu/Zn SOD, MnSOD) in the Blood of Healthy Subjects and Patients with Acute Pancreatitis. *Antioxidants (Basel)*. 2020. V.9(10). P.948. doi: 10.3390/antiox9100948

16. Sutton A., Imbert A., Igoudjil A., Descatoire V., Cazanave S., Pessayre D., Degoul F. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability // *Pharmacogenetics and Genomics*. 2005. V.15(5). P.311–319. DOI: 10.1097/01213011-200505000-00006

17. 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. DOI: 10.1007/s00125-010-2004-5

References

1. Andersen H.R., Jeune B., Nybo H., Nielsen J.B., Andersen-Ranberg K., Grandjean P. 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. DOI: 10.1093/ageing/27.5.643

2. Blein S., Berndt S., Joshi A.D., Campa D., Ziegler R.G., Riboli E., Cox D.G. NCI Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. Factors associated with oxidative stress and cancer risk in the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Free Radical Research*. 2014. V.48(3). P.380–386. DOI: 10.3109/10715762.2013.875168

3. Cortina-Borja M., Smith A.D., Combarros O., Lehmann D.J. The synergy factor: a statistic to measure

interactions in complex diseases. *BMC Res. Notes*. 2009. V.2(1). P.105. doi:10.1186/1756-0500-2-105

4. Dato S., Soerensen M., Lagani V., Montesanto A., Passarino G., Christensen K., Tan Q., Christiansen L. 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. *Experimental Gerontology*. 2014. V.52. P.23–29. DOI: 10.1016/j.exger.2014.01.014

5. El-Kheshen G., Moeini M., Saadat M. Susceptibility to Ulcerative Colitis and Genetic Polymorphisms of A251G SOD1 and C-262T CAT. *Journal of Medical Biochemistry*. 2016. V.35(3). P.333–336. DOI: 10.1515/jomb-2016-0002

6. Fabrizio P., Liou L.L., Moy V.N., Diaspro A., Valentine J.S., Gralla E.B., Longo V.D. SOD2 functions downstream of Sch9 to extend longevity in yeast. *Genetics*. 2003. V.163(1). P.35–46. DOI: 10.1093/genetics/163.1.35

7. Favorov A.V., Andreevski T.V., Sudomoina M.A. et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. *Genetics*. 2005. V.171(4). P.2113–2121. DOI: 10.1534/genetics.105.048090

8. Fomchenko N.E., Voropayev E.V., Skachkov A.V., Zatoran Yu. The biological role of mitochondria in body aging. *Health and Ecology Issues*. 2015. (4). P.8–13. DOI: 10.51523/2708-6011.2015-12-4-2

9. Haldar S.R., Chakrabarty A., Chowdhury S., Haldar A., Sengupta S., Bhattacharyya M. Oxidative stress-related genes in type 2 diabetes: association analysis and their clinical impact. *Biochemical Genetics*. 2015. V.53(4–6). P.93–119. DOI: 10.1007/s10528-015-9675-z

10. Hernandez-Guerrero C., Hernandez-Chavez P., Romo-Palafox I., Blanco-Melo G., Parra-Carriedo A., Perez-Lizaur A. 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 of Medical Research*. 2016. V.47(5). P.331–339. DOI: 10.1016/j.arcmed.2016.08.007

11. Jones D.A., Prior S.L., Tang T.S., Bain S.C., Hurel S.J., Humphries S.E., Stephens J.W. Association between the rs4880 superoxide dismutase 2 (C>T) gene variant and coronary heart disease in diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2010. V.90(2). P.196–201. DOI: 10.1016/j.diabres.2010.07.009

12. Khrisanfova E.N. Osnovy gerontologii (Antropologicheskiye aspekty). M.: Izd-vo Vladosvostok. 1999. 151 s. [The basics of gerontology (Anthropological aspects)] (In Russian).

13. Liu C., Fang J., Liu W. Superoxide dismutase coding of gene polymorphisms associated with

susceptibility to Parkinson's disease. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2019. V.18(3). P.299–303. DOI: 10.31083/j.jin.2019.03.127

14. Otaki Y., Watanabe T., Nishiyama S., Takahashi H., Arimoto T., Shishido T., Miyamoto T., Konta T., Shibata Y., Sato H., Kawasaki R., Daimon M., Ueno Y., Kato T., Kayama T., Kubota I. 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). e0164732. DOI: 10.1371/journal.pone.0164732

15. Ściskalska M., Ołdakowska M., Marek G., Milnerowicz H. Changes in the Activity and Concentration of Superoxide Dismutase Isoenzymes

(Cu/Zn SOD, MnSOD) in the Blood of Healthy Subjects and Patients with Acute Pancreatitis. *Antioxidants (Basel)*. 2020. V.9(10). P.948. doi: 10.3390/antiox9100948

16. Sutton A., Imbert A., Igoudjil A., Descatoire V., Cazanave S., Pessayre D., Degoul F. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2005. V.15(5). P.311–319. DOI: 10.1097/01213011-200505000-00006

17. 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. DOI: 10.1007/s00125-010-2004-5