

Glutathion-S-Transferase-Gene M1, T1 und P1

Molekulargenetische Diagnostik

Funktion der Glutathion-S-Transferasen

Die Enzymgruppe der Glutathion-S-Transferasen (GST) spielt eine maßgebliche Rolle im Rahmen des körpereigenen Entgiftungsprozesses (siehe Abb. 1). Die GSTs katalysieren die Konjugation elektrophiler Verbindungen an Glutathion (GSH). Dieser Vorgang erhöht die Wasserlöslichkeit der ursprünglichen Substanz und setzt somit deren Reaktivität herab. Die so modifizierten bzw. inaktivierten Substanzen können anschließend mit Hilfe membranständiger GSH-Transportproteine vornehmlich über die Galle und die Niere aus dem Körper entfernt werden.¹⁻⁷

GST entgiftet:

- endogene Verbindungen, z.B.
 - ROS (reaktive Sauerstoffspezies) als Folge von oxidativem Stress
 - Steroidhormon-Metaboliten
- exogene Verbindungen (Xenobiotika), z.B.
 - toxische Karzinogene
 - Medikamente
 - Nahrungsmittelzusatzstoffe

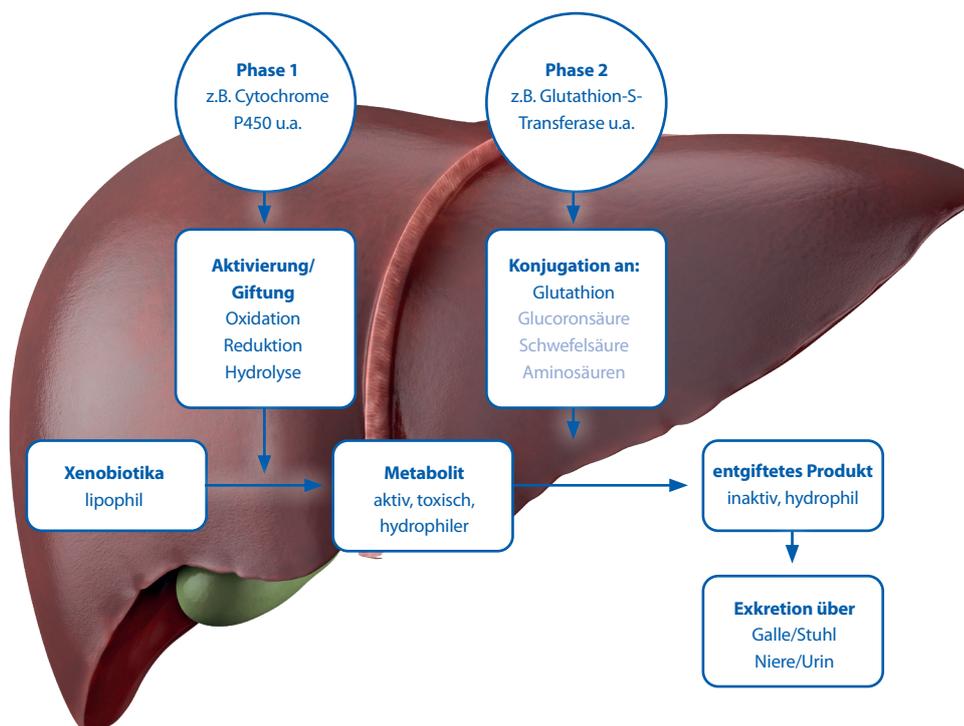


Abb. 1: Die Leber ist neben weiteren Geweben in der Lage im Rahmen der Entgiftung lipophile endogene und exogene Substanzen in wasserlösliche Verbindungen umzuwandeln. Die Biotransformation wird in zwei Phasen unterteilt: In Phase I (Umwandlungsreaktion) werden den Molekülen mit Hilfe verschiedener Enzyme (z.B. Cytochrome P450) funktionelle Gruppen hinzugefügt. Dies führt meist zu einer Aktivierung der Substanzen und erhöht ihre Reaktivität. Infolgedessen sind u.U. schädliche Reaktionen mit zellulären Komponenten (z.B. DNA, Proteine, Lipide) möglich, weshalb diese Zwischenprodukte schnellstmöglich entfernt werden müssen. In Phase II (Konjugationsreaktion) werden daher die funktionellen Gruppen enzymatisch (z.B. durch GST) mit wasserlöslichen Molekülen (z.B. GSH) konjugiert und können im Anschluss über die Galle sowie über die Niere ausgeschieden werden. Verbindungen, die bereits funktionelle Gruppen tragen, können ohne eine Phase I-Umwandlung in Phase II eintreten. Phase I-Enzyme wirken meist aktivierend, Phase II-Enzyme hingegen wirken i.d.R. deaktivierend und detoxifizierend. Findet der Vorgang der Biotransformation in anderen Organen (z.B. Gehirn, Lunge, Herz) statt, werden die entgifteten Produkte über die Blutbahn ausgeleitet.¹

Tab. 1: Neben der klassischen Konjugationsreaktion mit GSH besitzt GST zusätzlich weitere enzymatische sowie nicht enzymatische Funktionen ^{3,4,8}

| Zusätzliche GST-Funktionen | |
|--|---|
| Glutathion-Peroxidase-Aktivität | katalysiert die Reduktion organischer Hydroperoxide, die durch Lipidperoxidation und oxidative Schäden an der DNA entstehen. |
| Thiol-Transferase-Aktivität | spielt eine Rolle bei der Thiolyse (Spaltung chem. Bindungen unter Zugabe von CoA, z.B. bei der β -Oxidation von Fettsäuren) und Isomerisierungsreaktionen. |
| Nicht-enzymatische Funktion | Die Modulation von Signaltransduktionswegen (Kontrolle der MAPK-Aktivität) spielt eine entscheidende Rolle hinsichtlich des Zellüberlebens bzw. der Apoptose. |

Klassifizierung und Aufbau der Glutathion-S-Transferasen

Die zytosolische GST-Superfamilie umfasst mindestens **16 Gene**, die in **acht separate Klassen** unterteilt werden und deren Genprodukte sich z.T. hinsichtlich ihrer **Substrat-Spezifität** und ihres **Expressionsortes** unterscheiden können (siehe Tabelle 2).^{1-3,7} Bezeichnet werden sie als:

- GSTA (alpha), -K (kappa), -M (my), -P (pi), -S (sigma), -T (theta), -Z (zeta) und -O (omega)
- Die Mitglieder einer Klasse werden numerisch differenziert (z. B. GSTM1, GSTM2, GSTM3 etc.).

Alle diese Glutathion-S-Transferasen bilden Dimere (Homodimere oder Heterodimere innerhalb derselben Klasse), wobei jede der beiden Untereinheiten **zwei funktionelle Domänen** enthält:

- eine hochkonservierte Domäne zur Bindung von GSH
- eine Domäne zur Bindung strukturell unterschiedlicher reaktiver Substrate; diese Domäne kann sich zwischen den verschiedenen GST-Klassen deutlich unterscheiden und ist Ursache der variablen Substrat-Bindungs-Spezifität.^{4,5}

Im Rahmen einer GST-Enzymreaktion werden GSH und ein spezifisches reaktives Substrat gleichzeitig im aktiven Zentrum des Enzyms gebunden und in unmittelbare Nähe zueinander gebracht (siehe Abb. 2). Infolgedessen kann GSH an das Substrat konjugiert werden, wodurch die Reaktivität des Substrates gesenkt wird.⁵

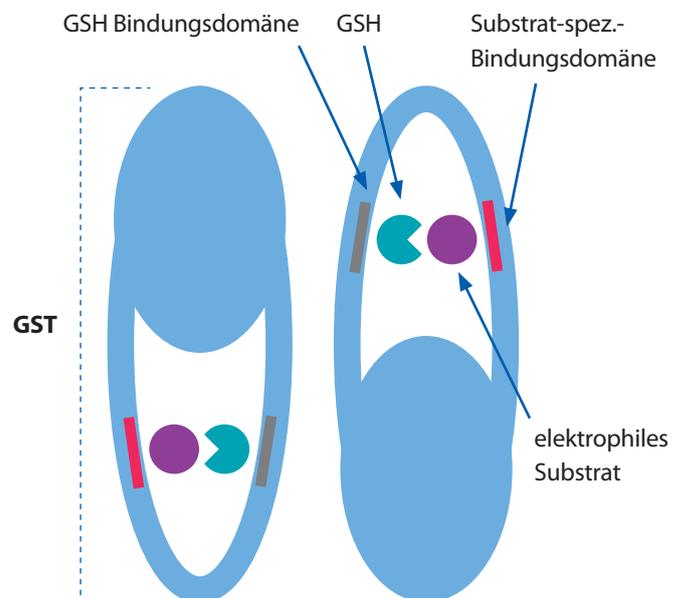


Abb. 2: Schematische Darstellung eines GST-Dimers mit seinen funktionellen Domänen zur Bindung von GSH und einem weiteren spezifischen Substrat.⁴

Die eingangs dargestellten zellulären Entgiftungsmechanismen (siehe Abb. 1) sind für die Aufrechterhaltung der Gesundheit von entscheidender Bedeutung. Daher können v.a. Mutationen innerhalb der Substratbindungsstellen der Phase I- und Phase II-Enzyme wie auch der GST die **Entgiftungskapazität des Körpers erheblich beeinträchtigen** und so zur Entstehung verschiedener Erkrankungen beitragen.^{2,5}

Mutationen in Glutathion-S-Transferase-Genen

Im Zusammenhang mit den *GST*-Genen konnten zahlreiche Polymorphismen nachgewiesen werden, die meist zu **Enzymen mit reduzierter oder fehlender Aktivität** führen. Am besten untersucht und beschrieben sind Mutationen in den Genen *GSTM1*, *-T1* und *-P1*. Trägern einer homozygoten

Deletion des *GSTM1*- oder *GSTT1*-Gens fehlt ein funktionierendes *GSTM1*- bzw. *GSTT1*-Protein.^{7,9-12} Verschiedene Punktmutationen im *GSTP1*-Gen führen hingegen zu einer reduzierten *GSTP1*-Enzymaktivität (siehe Tab. 2).^{5,7,12-18}

Tab. 2: Eigenschaften der GST-Klassen und ihrer möglichen genetischen Polymorphismen

| | <i>GSTM1</i> | <i>GSTT1</i> | <i>GSTP1</i> |
|--|---|---|---|
| Expressionsort sortiert in absteigender Expressionsstärke | Leber > Hoden > Gehirn > Nebenniere, Niere, Pankreas > Lunge, Herz ^{2,3,5} | Niere, Leber > Dünndarm > Gehirn, Milz, Prostata, Pankreas, Hoden > Herz, Lunge ^{2,3,5} | Gehirn > Herz, Lunge, Hoden > Niere, Nebenniere, Pankreas > Leber ^{2,3,5} |
| Mutation | partielle oder vollständige Deletion des Gens ^{7,9-12} | partielle oder vollständige Deletion des Gens ⁹ | Punktmutationen an den Positionen 313 (A→G) bzw. 341 (C→T) führen zu einem Aminosäureaustausch von Isoleucin zu Valin (Codon 105) bzw. Alanin zu Valin (Codon 114) innerhalb des aktiven Zentrums des Enzyms. ^{13-15,18} Daraus ergeben sich verschiedene <i>GSTP1</i> -Varianten: <i>GSTP1</i> *A (Wildtyp): Ile (105), Ala (114) <i>GSTP1</i> *B: Val (105), Ala (114) <i>GSTP1</i> *C: Val (105), Val (114) <i>GSTP1</i> *D: Ile (105), Val (114) |
| Mutationswirkung | <ul style="list-style-type: none"> Bei homozygoter Ausprägung entsteht der sog. Null-Phänotyp ohne aktives Enzym. Eine heterozygote Ausprägung hat keine Auswirkung auf die Enzymaktivität.^{11,12} | <ul style="list-style-type: none"> Bei homozygoter Ausprägung entsteht der sog. Null-Phänotyp ohne aktives Enzym. Eine heterozygote Ausprägung hat keine Auswirkung auf die Enzymaktivität.^{11,12} | <ul style="list-style-type: none"> Minderung der Konjugationsaktivität Senkung der katalytischen Effizienz um das 3- bis 4-fache substratspezifische Thermostabilität evtl. Änderung der Substratspezifität Das Ausmaß des Aktivitätsverlustes ist abhängig von der Ausprägung (homozygot oder heterozygot) sowie der Kombination der möglichen Mutationen (<i>GSTP1</i>-Varianten).^{5,9,12-16} |
| Mutationshäufigkeit (Europäer) | 38-67 % ^{3,5-7,11,12} | 10-30 % ^{3,5-7,11,12} | <i>GSTP1</i> *A/*B: 33 % (heterozygot) <i>GSTP1</i> *A/*C oder <i>GSTP1</i> *B/*D: 12 % (heterozygot bzw. compound heterozygot) <i>GSTP1</i> *A/*D: 0,8 % (heterozygot) <i>GSTP1</i> *B/*B: 8,5 % (homozygot) <i>GSTP1</i> *B/*C: 2 % (compound heterozygot) <i>GSTP1</i> *C/*C: 1,2 % (homozygot) ^{3,7,9,19} |

homozygote Ausprägung: beide Genkopien tragen dieselbe Mutation

heterozygote Ausprägung: eine der beiden (mütterliche oder väterliche) Genkopien trägt eine Mutation

compound heterozygote Ausprägung: beide Genkopien tragen eine Mutation, allerdings unterschiedliche

Mögliche Folgen des Glutathion-S-Transferase-Polymorphismus

Krebserkrankungen: Homozygote Deletionen von *GSTM1* oder *GSTT1* (*GSTM1*- bzw. *GSTT1*-null-Genotyp) sowie bestimmte *GSTP1*-Varianten stehen in Zusammenhang mit einem erhöhten Krebsrisiko. Der resultierende Verlust der Enzymaktivität könnte eine limitierte Entgiftungskapazität krebserregender Substanzen zur Folge haben. Dies führt mutmaßlich zu einer Ansammlung dieser Karzinogene, was das Risiko für DNA-Schäden, Mutationen und die Entstehung von Tumoren steigert. Die Kombination dieser genetischen Faktoren mit der Exposition gegenüber verschiedenen Umwelt-Karzinogenen könnte eine wesentliche Rolle bei der Krebsentwicklung spielen.^{2,4,8,9,11,20}

Auch **neurodegenerative Erkrankungen** wie beispielsweise Morbus Alzheimer oder die Parkinson-Erkrankung sind mit dem *GST*-Polymorphismus assoziiert. Einer der Auslöser für die Entstehung und das Fortschreiten neurodegenerativer Erkrankungen ist oxidativer Stress, auf den insbesondere Neuronen hochsensitiv reagieren. Dieser kann u.a. durch eine Dysregulation der *GST*-Homöostase, veränderte *GST*-Level oder -Funktionen entstehen. Gerade Alzheimer-Patienten zeigen oftmals eine reduzierte *GST*-Aktivität im Gehirn und die enzymatisch weniger aktive *GSTP1C*-Variante ist besonders häufig bei diesen Patienten zu finden. Der *GSTP1*-Polymorphismus scheint außerdem ebenfalls mit der Entwicklung von ALS (Amyotrophe Lateralsklerose) verbunden zu sein. Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass bei bestehendem *GSTM1*- bzw. *GSTT1*-null-Genotyp ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Epilepsie besteht.⁴

Beide Null-Deletionen sind zusätzlich unabhängige Risikofaktoren einer **Diabetes Typ 2-Erkrankung** und ein kombiniertes Vorkommen beider Deletionen erhöht das Diabetes Typ 2-Risiko ca. um das 3-fache verglichen mit Kontrollpersonen ohne Null-Genotyp. Auch scheinen beide Deletionsmutanten speziell bei Rauchern zur Entwicklung einer **koronaren Arteriosklerose** beizutragen.^{21,22} Letztlich ist der genetische Polymorphismus der *GST*-Gene auch in die Pathogenese verschiedener **Lebererkrankungen** (z.B. nicht-alkoholische Fettleber, Hepatitis, Leberzirrhose unterschiedlicher Ätiologie sowie Leberkrebs) involviert.⁶

Nachteil einer funktionierenden und effizienten Phase II-Entgiftung durch *GSTs* kann jedoch eine mögliche Zytostatikaresistenz im Rahmen einer Krebstherapie sein. Vor allem die Wildtyp *GSTP1**A-Variante wird in einer Vielzahl an Tumoren überexprimiert und verursacht z. B. eine Cisplatinresistenz durch die Bildung von Platin-GSH-Konjugaten. Außerdem schützen *GSTs* über den nicht-enzymatischen Weg durch eine Inhibition des MAP-Kinase-Signalweges (MAP, engl. mitogen-activated protein) die Tumorzellen vor der Apoptose.^{4,8,17}

Der GST-Pymorphismus beeinflusst das Risiko:

- einer Tumorerkrankung
- verschiedener neurologischer Erkrankungen (Morbus Alzheimer, Parkinson-Erkrankung, Epilepsie, ALS)
- einer Diabetes Typ 2-Erkrankung
- bestimmter Lebererkrankungen (NAFL, Hepatitis, Leberzirrhose, Leberkarzinom)
- einer Zytostatikaresistenz



Labordiagnostik

GANZIMMUN Diagnostics bietet eine molekulargenetische Untersuchung des *GSTM1*-, *-T1*- und *-P1*-Polymorphismus an. Da es sich um eine humangenetische Untersuchung handelt, wird als Probenmaterial ein separates Röhrchen (EDTA-Blut) benötigt aus dem keine zusätzlichen Parameter bestimmt werden können. Gemäß den Vorgaben des Gendiagnostikgesetzes (GenDG) ist eine ausführliche Aufklärung, sowie eine **schriftliche Einwilligung des Patienten** zwingend erforderlich.

Das Formular für die Einwilligungserklärung steht unter <https://www.ganzimmun.de/labor/genetische-diagnostik> als Download bereit oder kann alternativ über unsere Kundenbetreuung bestellt werden.



Glutathion-S-Transferase M1, *GSTM1*-Gen (8104)

| Abrechnung und Preise | |
|----------------------------|------------------|
| GOÄ: | 3920, 3922, 3924 |
| Preis Selbstzahler: | 99,09 € |
| Preis Privatpatient | 113,95 € |

| Probenentnahme | |
|------------------------|--------------------------|
| Probenmaterial: | EDTA-Blut |
| Probenversand: | keine Besonderheiten |
| Bogen: | Humangenetische Analysen |

Glutathion-S-Transferase T1, *GSTT1*-Gen (8103)

| Abrechnung und Preise | |
|----------------------------|------------------|
| GOÄ: | 3920, 3922, 3924 |
| Preis Selbstzahler: | 99,09 € |
| Preis Privatpatient | 113,95 € |

| Probenentnahme | |
|------------------------|--------------------------|
| Probenmaterial: | EDTA-Blut |
| Probenversand: | keine Besonderheiten |
| Bogen: | Humangenetische Analysen |

Glutathion-S-Transferase P1, *GSTP1*-Gen (8106)

| Abrechnung und Preise | |
|----------------------------|------------------|
| GOÄ: | 3920, 3922, 3924 |
| Preis Selbstzahler: | 99,09 € |
| Preis Privatpatient | 113,95 € |

| Probenentnahme | |
|------------------------|--------------------------|
| Probenmaterial: | EDTA-Blut |
| Probenversand: | keine Besonderheiten |
| Bogen: | Humangenetische Analysen |

Glutathion-S-Transferase-Gene M1, T1 und P1, *GST*-Gene M1, T1, P1 (8107)

| Abrechnung und Preise | |
|----------------------------|--------------------|
| GOÄ: | 3920, 3922, 3x3924 |
| Preis Selbstzahler: | 134,07 € |
| Preis Privatpatient | 154,17 € |

| Probenentnahme | |
|------------------------|--------------------------|
| Probenmaterial: | EDTA-Blut |
| Probenversand: | keine Besonderheiten |
| Bogen: | Humangenetische Analysen |

Autorin: Dr. rer. nat. Dorthe Aasland

Literatur:

1. Mazari AM et al. (2023) The Multifaceted Role of Glutathione S-Transferases in Health and Disease. *Biomolecules*, 13; (4).
2. Hayes JD, Strange RC (2000) Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*, 61; (3):154–166.
3. Dai X et al. (2022) Interactions between glutathione S-transferase genes and household air pollution on asthma and lung function. *Front Mol Biosci*, 9:955193.
4. Allocati N et al. (2018) Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*, 7; (1):8.
5. Eaton DL, Bammler TK (1999) Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci*, 49; (2):156–164.
6. Prsyazhnyuk V et al. (2021) Glutathione-S-transferases genes-promising predictors of hepatic dysfunction. *World J Hepatol*, 13; (6):620–633.
7. Sharma A et al. (2014) Genetic polymorphism of glutathione S-transferase P1 (GSTP1) in Delhi population and comparison with other global populations. *Meta Gene*, 2:134–142.
8. McIlwain CC et al. (2006) Glutathione S-transferase polymorphisms: cancer incidence and therapy. *Oncogene*, 25; (11):1639–1648.
9. Drozd-Afelt JM et al. (2020) Polymorphism of glutathione S-transferase in the population of Polish patients with carcinoma of the prostate. *Environ Sci Pollut Res Int*, 27; (16):19375–19382.
10. Glutathione S-Transferase, MU-1; GSTM1: OMIM 138350, <https://www.omim.org/entry/138350>.
11. Cotton SC et al. (2000) Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol*, 151; (1):7–32.
12. Coughlin SS, Hall IJ (2002) Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of ovarian cancer: a HuGE review. *Genet Med*, 4; (4):250–257.
13. GSTP1: Glutathione S-Transferase pi 1, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/genes/2950/>.
14. Ali-Osman F et al. (1997) Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J Biol Chem*, 272; (15):10004–10012.
15. Glutathione S-Transferase, Pi; GSTP1: OMIM 134660, <https://www.omim.org/entry/134660>.
16. Moyer AM et al. (2008) Glutathione s-transferase p1: gene sequence variation and functional genomic studies. *Cancer Res*, 68; (12):4791–4801.
17. Srivastava SK et al. (1999) Differential catalytic efficiency of allelic variants of human glutathione S-transferase Pi in catalyzing the glutathione conjugation of thiotepa. *Archives of biochemistry and biophysics*, 366; (1):89–94.
18. Hemmingsen A et al. (2001) Simultaneous identification of GSTP1 Ile105–Val105 and Ala114–Val114 substitutions using an amplification refractory mutation system polymerase chain reaction assay: studies in patients with asthma. *Respir Res*, 2; (4):255–260.
19. Schnakenberg E et al. (2007) A cross-sectional study of self-reported chemical-related sensitivity is associated with gene variants of drug-metabolizing enzymes. *Environ Health*, 6; (1):6.
20. McCarty KM et al. (2007) A case-control study of GST polymorphisms and arsenic related skin lesions. *Environ Health*, 6; (1):5.
21. Amer MA et al. (2011) Influence of glutathione S-transferase polymorphisms on type-2 diabetes mellitus risk. *Genet. Mol. Res.*, 10; (4):3722–3730.
22. Abu-Amero KK et al. (2006) T null and M null genotypes of the glutathione S-transferase gene are risk factor for CAD independent of smoking. *BMC Med Genet*, 7:38.