

**АТРАМЕНТОВА Л.А., КАРАЧЕНЦЕВ Ю.И., ГОРШУНСКАЯ М.Ю.,
ТЫЖНЕНКО Т.В., КРАВЧУН Н.А., ПОЧЕРНЯЕВ А.К., БАРБУЛ О.П.,
ПОЛТОРАК В.В.**

¹ГУ “Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины”,
Украина, 61002, Харьков, ул. Артёма, 10

²Харьковская медицинская академия последипломного образования,
Украина, 61176, Харьков, ул. Корчагинцев, 58

³Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина,
Украина, 61077, Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: wshkoda23@rambler.ru

О РЕГИОНАЛЬНОМ РЕГИСТРЕ МАРКЁРОВ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

В настоящее время в Украине более миллиона людей больны сахарным диабетом (СД). Примерно 86% случаев заболевания СД приходится на 2 тип. Считается, что реальное количество больных в 2–3 раза больше за счёт не выявленных и скрытых форм заболевания. Эти люди с высокой генетической предрасположенностью к заболеванию должны стать объектом целенаправленной профилактики СД. Выявление таких людей проводится по специальным признакам – маркёрам наследственной предрасположенности. К настоящему времени накоплена обширная информация о ДНК-маркёрах и генах-кандидатах СД [1–5]. Это создаёт хорошие возможности для выявления группы повышенного риска, однако практическое использование результатов молекулярно-генетических исследований ещё отстаёт от научных разработок.

Эффективность использования маркёров зависит, как известно, от разницы их частот в сравниваемых группах, поэтому диагностическая ценность каждого маркёра имеет локально-популяционное значение. СД 2 типа — заболевание этноспецифичное. У современных народов, предки которых в течение тысячелетий занимались земледелием, заболеваемость сахарным диабетом значительно ниже, чем у тех, чьи предшественники в недавнем прошлом вели образ жизни охотников, собирателей или скотоводов. В европейских странах сахарным диабетом 2 типа больны 3–6% населения, в Полинезии и Микронезии — 25–30%. Среди жителей США европейского происхождения больные СД 2 типа составляют 5%, среди афроамериканцев — 10%, выходцев из Мексики — 24%. У индейцев Пима СД 2 типа поражены 35%, а в возрасте 55–64 лет — 70% населения. В ходе предшествующей генно-культурной коэволюции у народов-земледельцев сформировался генофонд, адаптированный к пище с высоким гликемическим индексом. Генофонд народов, которые вследствие глобализации приобщились к западной цивилизации, но не прошли адаптации в процессе биологической эволюции, оказался не приспособленным к этим условиям. Эпидемию СД, которая поразила эти народы, генетики рассматривают как реакцию определённых генотипов на новые факторы среды. Понимание этого приводит к мысли о необходимости разрабатывать систему мер по профилактике СД 2 типа в

каждом населении с учётом его индивидуальной истории и местных условий. В данной статье представлены данные об однонуклеотидных полиморфизмах (SNP) генов параоксоназы *PON-1* и адипонектина *APM-1* и изложены принципы создания региональных регистров для выделения группы риска по заболеванию СД 2 типа.

Материалы и методы

Образцы крови 213 больных СД 2 типа получены в клинике Института проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины (г. Харьков). Образцы крови 200 здоровых доноров получены на Харьковской областной станции службы крови с их письменного согласия. Все обследованные, украинцы и русские, были жителями Харькова и Харьковской области. Учитывались генеалогические данные и место рождения обследованных. ДНК выделена из лейкоцитов при помощи ионообменной смолы ChelexR100. Однонуклеотидную замену *Q192R* в гене *PON-1* и однонуклеотидную замену *+276G>T* в гене *APM-1* определяли путём полимеразной цепной реакции. Разделение фрагментов ДНК после рестрикции проводится с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. По информации о числе генотипов были рассчитаны частоты SNP у мужчин и женщин, русских и украинцев, больных СД 2 типа и здоровых людей. Для оценки связи между SNP и СД 2 типа рассчитывали показатели относительного риска (*RR*) и отношения шансов (*OR*) и 95% доверительные интервалы. Проверку статистических гипотез о равенстве распределений генотипов и частот SNP проводили помощью критерия χ^2 на уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение

Однонуклеотидный полиморфизм *Q192R* гена *PON-1*, приводящий к изменению активности параоксоназы, представляет собой несинонимическую замену *Q192R* SNP, которая связана с продукцией двух изоферментов, различающихся аминокислотными остатками — глутаминовый (Q) или аргининовый (R) — в позиции 192 активного центра фермента. Аллельные варианты гена предлагают использовать в качестве маркёров повышенного риска к сердечно-сосудистым и эндокринным заболеваниям, поскольку активность данного фермента у больных имеет иные значения, чем у здоровых индивидов [5, 6]. Лocus *APM-1* ассоциирован с СД 2 типа [Kissenbah, Sonnenberg, Mylekust J. et.al., 2000]. Однонуклеотидная замена в этом гене (SNP+276G>T), ассоциированная с инсулиновой резистентностью [2], относится к интону 2.

По частотам SNP гена *PON-1* и гена *APM-1* различий между русскими и украинцами, больными СД 2 и здоровыми мужчинами и женщинами не обнаружено. Частоты SNP *PON-1* во всех сравниваемых группах находятся на уровне (p_Q) 0,65–0,70 и (p_R) 0,30–0,35. Частоты SNP гена *APM-1* также не различаются у больных и здоровых, не зависят от пола и национальности и составляют (p_G) 0,45–0,50 и (p_T) 0,50–0,55. Таким образом, поиск предрасполагающего и защитного аллеля в отношении СД 2 типа в изученном населении успехом не увенчался. Анализ генотипов также не выявил различий по полу и национальности обследованных. Различия по генотипам были обнаружены лишь между больными СД 2 типа и здоровыми. Среди больных

было больше гомозигот, чем в контрольной группе. Удельный вес (в %) генотипов по гену *PON-1* составляет (контроль/больные): *QQ* (39/57), *QR* (52/26) и *RR* (9/17) ($p < 0,05$). Для гена *APM-1* это соотношение составляет: *GG* (7/28), *GT* (77/43), *TT* (16/29) ($p < 0,05$). Расчёт относительного риска и отношения шансов показал, что для гомозиготы *QQ* (ген *PON-1*) вероятность заболеть СД 2 типа в 1,46 раза превышает среднее популяционное значение. У гомозиготы *RR* вероятность заболеть СД 2 типа повышена в 1,89 раза ($p < 0,05$). У носителей генотипа *QR* риск оказался в два раза меньше, чем в среднем для населения. Наличие гомозиготного генотипа по SNP *APM-1* повышает вероятность заболевания СД 2 типа в 2,5 раза, а у гетерозигот риск понижен в два раза по сравнению с популяционным значением ($p < 0,05$).

Отсутствие разницы по частотам аллелей изученных генов между русскими и украинцами в Харькове и Харьковской области указывает на возможность использования в данном регионе единого регистра для славянского населения. Это, однако, не означает, что различий между славянскими группами не будет и в других областях. Генофонд населения восточной части Украины формировался на протяжении более чем трёх сотен лет совместного проживания этнических русских и украинцев. Генетические миграции, происходящие на протяжении десятков поколений, а также обитание в одной и той же географической зоне могли привести к выравниванию аллельных частот у современных русских и украинцев, проживающих на этой территории, если допустить, что прежде такие различия имелись. Генофонд населения, проживающего на приграничных территориях западной Украины, испытывал давление миграций с иными генетическими характеристиками, а подразделённость популяции создать градиент частот. В связи с этим переносить локальные данные на всё население нужно с осторожностью.

Информация о частотах SNP и генотипах даёт представление о структуре популяции и процессах, которые в них происходят. Так, по гену *PON-1* структура населения Харьковской области в целом соответствует состоянию панмиксии (выполняется равновесие Харди—Вайнберга), но частоты генотипов не совпадают у выходцев из сёл и коренных горожан: последние чаще являются гетерозиготами. По SNP гена *APM-1* популяция отклоняется от состояния панмиксии в сторону значительного преобладания гетерозигот. Это говорит о селективной значимости данного локуса и целесообразности его углублённого исследования. Изученные локусы являются аутосомными (*PON-1* расположен на хромосоме 7, *APM-1* на хромосоме 3), но один лишь этот факт не является достаточным основанием для создания общего регистра. Ген может иметь неодинаковую адаптивную ценность у мужчин и женщин, специфически проявляться в разных популяциях.

Использовать молекулярный маркёр для массового скрининга нецелесообразно, так как это даёт лишь небольшую прибавку в оценке риска. В изученном населении популяционная частота СД 2 типа составляет 1,5%. При носительстве предрасполагающего генотипа риск заболевания увеличивается в 1,5–2,5 раза, достигая 3–5%, что не выходит за пределы критического (10%), при котором медико-генетическое консультирование считается необходи-

мым. При использовании нескольких независимых маркёров прогноз уточняется, однако стоимость его увеличивается. Совершенствование технологии, безусловно, изменит ситуацию, однако в настоящее время применение ДНК-маркёров при массовом скрининге пока не оправдано — в настоящее время идёт процесс генетической инвентаризации. На первых этапах для прогнозирования целесообразно использовать другие, менее затратные показатели риска. Наиболее доступным предиктором наследственной предрасположенности является генеалогическая характеристика консультируемого, которая даёт представление о специфическом риске, в то время как молекулярные маркёры ассоциированы не только с искомым заболеванием, но и с другими, что, в общем, не противоречит идее об единой системе генотипа, как факторе развития признаков. Риск заболевания полигенной природы для родственника первой степени больного рассчитывается как квадратный корень из популяционной частоты [8], значит, риск для родственников первой степени больного составляет около 12% превосходит критическое значение, при котором рекомендуется медико-генетическое консультирование, что позволяет отнести индивида к группе риска. Уточнить вероятность заболевания позволяют легко доступные для анализа признаки, ассоциированные с заболеванием: индекс массы тела, морфологические особенности и др. Молекулярные маркёры целесообразно использовать для уточнения риска после того, как реализованы все другие, менее затратные методы. Использование ДНК-маркёров на заключительном этапе позволяет сделать прогноз более надёжным и сузить круг лиц, которым требуется превентивная терапия в первую очередь. Эффективность применения регионального регистра зависит от того, насколько широк его спектр и насколько информативны маркёры для локального населения. При формировании регистров нужно учитывать региональные особенности этнически гетерогенного населения, тип популяции (мегаполис, частичный изолят), наличие изолирующих механизмов и др. Выявление этнических, половых и других особенностей в распределении маркёров требует проведения более обширных исследований. Затраты на это исследование окупятся тем, что дорогостоящие профилактические меры будут направлены на людей, которые больше всего в этом нуждаются.

Литература

1. *Hivert M.-F., Manning A.K., McAteer J.B., Florez J.C., Dupuis J., Fox C.S., O'Donnell C.J., Cupples L.A., Meigs J.B.* Common variants in the adiponectin gene (*ADIPOQ*) associated with plasma adiponectin levels, type 2 diabetes, and diabetes-related quantitative traits // *Diabetes*.— 2008.— Vol.57.— P. 3353–3359.
2. *Menzaghi C., Trischitta V., Doria A.* Genetic influences of adiponectin on insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease // *Diabetes*.— 2007.— Vol.56.— P. 1198–1209.
3. *Vimalaswaran K.S., Radha V., Ramya K. et al* A novel association of a polymorphism in the first intron of adiponectin gene with type 2 diabetes, obesity and hypo adiponectinemia in Asian Indians // *Human Genetics*.— 2008.— V.123(6).— P. 599–605.
4. *Koch M., Hering S., Barth C.* Paraoxonase-1 192 Gln/Arg gene polymorphism and cerebrovascular disease: interaction with type 2 diabetes // *Exp Clin. Endocrinol. Diabetes*.— 2001.— Vol.109.— P. 141–145.

5. Antikainen M., Murtomaki S., Syvanne M. et al. The Gln-Arg 192 polymorphism of the human paraoxonase gene (*HUMPON1*) is not associated with the risk of coronary artery disease in Finns // J. Clin. Invest.— 1996.— Vol.98.— P. 883–885.

6. Sanghera D.K., Saha N., Aston C.E., Kamboh M.I. Genetic polymorphism of paraoxonase and the risk of coronary heart disease // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.— 1997.— Vol.17(6).— P. 1067–1073.

7. Kotur-Stevuljevic J., Spasic S., Stefanovic A. et al. Paraoxonase-1 (*PON1*) activity, but not *PON1* (*Q192R*) phenotype, is a predictor of coronary artery disease in a middle-ages Serbian population // Clin. Chem. Lab. Med.— 2006.— Vol.44(10).— P. 1206–1213.

8. Falconer D.S. The inheritance of liability to certain diseases with variable age of onset with particular reference to diabetes mellitus // Ann. Hum. Genet.— 1967.— Vol.31.— P. 1–20.

Резюме

Частоти SNP *Q192R* гена *PON-1* (p_O 0,65–0,70 и p_R 0,30–0,35), SNP +276G>T гена *APM-1* (p_G 0,45–0,50, p_T 0,50–0,55) не различаются у русских и украинцев, больных сахарным диабетом 2 типа и здоровых мужчин и женщин. Распределение этих SNP-генотипов не зависит от национальности и пола. Фактором риска по СД 2 типа является гомозиготность по указанным SNP.

Частоти SNP *Q192R* гена *PON-1* (p_O 0,65–0,70 и p_R 0,30–0,35), SNP +276G>T гена *APM-1* (p_G 0,45–0,50, p_T 0,50–0,55) не розрізняються у етнічних росіян і українців, хворих на цукровий діабет 2 типу і здорових чоловіків і жінок. Розподіл генотипів не залежить від національності і статі. Фактором ризику на ЦД 2 типу є гомозиготність за вивченими SNP.

The frequencies of SNP *Q192R* gene *PON-1* (p_O 0,65–0,70 and p_R 0,30–0,35) and SNP +276G>T gene *APM-1* (p_G 0,45–0,50 and p_T 0,50–0,55) are the same in Russians and Ukrainians, in patients with 2 type diabetes mellitus and healthy men and women. The distribution of genotypes does not depend on ethnicity and gender. The homozygotic persons have a higher risk of 2 type DM.

БАГАЦЬКА Н.В., КОВАЛЬОВА В.І., НЕФІДОВА В.Є., МЕДЗЯНОВСЬКА О.В.

ДУ "Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України",

Україна, 61153, Харків, пр. 50-річчя ВЛКСМ, 52-А, e-mail: iozdp@ukrpost.ua

ОЦІНКА СТАНУ ХРОМОСОМНОГО АПАРАТУ ХВОРИХ ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ З РІЗНИМИ МУЛЬТИФАКТОРІАЛЬНИМИ ХВОРОБАМИ

На сьогодні особливу увагу дослідників привертає вивчення генетичних факторів у формуванні мультифакторіальних хвороб. Мультифакторіальні хвороби (МХ) — велика та різнобічна група, розвиток котрих визначається взаємозв'язком певних спадкових (мутацій або сполучень алелей) та середовищних факторів. Етіологія та патогенез МХ достатньо складні, багатоступеневі і остаточно ще не з'ясовані [5]. Відмічається зростання хронічних