

УДК 616.379-008.64:576.8-097.25:612.017.1:616-097:575

© Ю. В. Сульская, 2009.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРОВ 4 ТИПА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

**Ю. В. Сульская***Кафедра внутренней медицины №2 (зав. – проф. В. А. Белоглазов) Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского, г. Симферополь.*

### GENETIC POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTORS TYPE 4 IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2

I. V. Sulka

#### SUMMARY

The purpose of this work is a study of genetic polymorphism of Toll-like receptors type 4 in patients with diabetes mellitus type 2. 60 patients with different severity of DM type 2, in age qualification from 40 to 80 years old, being on stationary treatment in the endocrinology department of the Crimean Republic Organization «Clinical hospital named after N.A.Semashko» were studied. By the analysis of prevalence of polymorphism of Asp299Gly in patients with type 2 diabetes mellitus was set, that 6,67% patients have genotype GG, that differs from the control group. In addition, it was exposed, that frequency of G allele is different in the group of patients with type 2 diabetes mellitus and in the control group. Thus, it was set that allele G of gene of TLR4 is marked by the increased risk of development of type 2 diabetes mellitus in the studied selection.

### ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРІВ 4 ТИПУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Ю. В. Сульська

#### РЕЗЮМЕ

Метою роботи є вивчення генетичного поліморфізму Toll-like рецепторів 4 типу у хворих на цукровий діабет 2 типу. Нами була обстежена група з 60 хворих на цукровий діабет 2 типу, що знаходились на стаціонарному лікуванні в ендокринологічному відділенні КРУ «КП ім. Н.А. Семашко». При аналізі поширеності поліморфізму Asp299gly у хворих на цукровий діабет 2 типу було встановлено, що генотип GG мають 6,67% хворих, що достовірно відрізняється від групи контролю. Крім того, виявлено, що частота аллеля G достовірно відмінна в групі хворих на цукровий діабет 2 типу і контрольній групі. Таким чином, встановлено, що аллель G гена TLR4 маркірує підвищений ризик розвитку цукрового діабету 2 типу у вивченій вибірці.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, Toll-like рецепторы 4 типа, иммунитет.

В настоящее время изучение полиморфизма генов регуляторных молекул воспаления приобретает особую актуальность. Знание их роли в патогенезе многих заболеваний, наряду с достижениями современной геномики позволяет, с одной стороны, прогнозировать риск развития патологии или тяжесть ее протекания, с другой стороны, подобрать специфическую терапию, включая средства иммунокоррекции, для конкретного пациента [19, 20].

В связи с этим *целью* данной работы явилось изучение генетического полиморфизма Toll-like рецепторов 4 типа у больных сахарным диабетом 2 типа.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели нами была обследована группа из 60 больных сахарным диабетом 2 типа (из них женщин – 35, мужчин – 25) в возрастном цензе от 40 до 80 лет, находящихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении КРУ «КБ им. Н.А. Семашко». Все обследованные женщины находились в состоянии менопаузы. Диагноз поставлен на основе классификаций ВОЗ (1999).

Контрольная группа была сформирована из здоровых доноров, сопоставимых с группой испытуемых по полу и возрасту (n=30).

Всем больным проводилось комплексное клиническое, лабораторное, инструментальное исследование.

Материалом исследования служила периферическая венозная кровь из кубитальной вены. С целью изучения аллелей полиморфного участка Asp299Gly гена Toll-like рецептора 4 типа выделяли геномную ДНК из венозной крови обследуемых методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфный участок ДНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции на амплификаторе «Терцик» („ДНК-Технология”, Москва).

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ТОВ «Альфа», г.Донецк.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время можно считать аксиомой ведущую роль воспаления в развитии основных хронических заболеваний человека, развивающихся в течение всей жизни, и самого процесса старения. Этому существует огромное количество доказательств, как экспериментальных, так и клинических, много-

кратно суммированных и обсужденных. Это касается в первую очередь атеросклероза и его осложнений (ИБС, ИБМ и т.п.) [1, 2, 3, 4, 5, 6], эссенциальной артериальной гипертензии [7, 8, 9, 10, 11, 12], сахарного диабета 2 типа [13], метаболического синдрома [14, 15, 16], хронического неспецифического заболевания легких [17], болезни Альцгеймера и старения [18].

Полагают, что причиной воспаления при столь различной, на первый взгляд, но ассоциированной с возрастом патологии, является длительная активация иммунной системы [19].

Некоторые гастроэнтерологи отводят значительное место в патогенезе поражений желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) больных сахарным диабетом изменениям кишечного микробиоценоза [1, 21]. Микробиоценоз кишечника представляет собой сложную ассоциацию микроорганизмов, взаимно влияющих на их жизнедеятельность и находящихся в постоянной взаимосвязи с макроорганизмом.

Одной из важнейших функций нормальной микрофлоры кишечника является непосредственное участие в формировании иммунологической реактивности организма. При синдроме избыточного бактериального роста микробиота толстого кишечника при помощи ударного ферментативного аппарата бактерий и высвобождения эндотоксинов поражает слизистую оболочку кишки. В частности, эндотоксины повреждают эпителий илеоцекального отдела кишечника, в значительной мере нарушают метаболизм желчных кислот в цикле их энтерогепатической циркуляции, приводя в итоге к дислипидемии. Установлено, что при дислипидемии происходят выраженные дисбиотические изменения кишечника, следствием которых является эндотоксемия, бактериальная транслокация, нарушение функции и структуры печени. Теория М.Ю. Яковлева о роли эндо-

токсина в физиологии и патологии человека [20] квалифицирует «эндотоксиновую агрессию», как универсальный фактор, участвующий в патогенезе большинства заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза.

Как известно, индивидуальная восприимчивость организма к инфекциям определяется патогенностью микроорганизма, факторами окружающей среды и состоянием иммунной системы. Различия в генах, контролируемых защитные реакции организма, могут определять различный характер протекания воспалительного ответа и специфических иммунологических реакций при внедрении патогенов. В первую очередь это касается генов регуляторных молекул, обеспечивающих начальные этапы развития воспалительной реакции: распознавание патогена, проведение внутриклеточного активационного сигнала и синтез медиаторов развития воспалительной реакции, в состав которых входят и цитокины [19, 20].

Активация толл-подобных рецепторов происходит при связывании лигандов, которыми для них являются определённые структуры бактерий, вирусов и грибов.

Общей чертой функционального полиморфизма генов TLR и большинства других молекул является снижение способности распознавания соответствующих лигандов, приводящее к менее выраженной активации клеток после встречи с патогенами.

При анализе распространенности полиморфизма Asp299Gly у больных сахарным диабетом 2 типа было установлено, что генотип GG имеют 6,67% больных, что достоверно отличается от группы контроля ( $p < 0,05$ ). Как видно из таблицы 1, гетерозиготный вариант данного гена характерен для 10,0% больных, гомозиготы с А аллелем встречаются у 83,33% больных, что достоверно не отличается от группы контроля.

Таблица 1

**Распространенность полиморфизма Asp299Gly у больных сахарным диабетом 2 типа**

Генотип, аллель	Контрольная группа, абс.% (n=30)	Группа больных СД 2 типа, % (n=60)
GG	0,0	6,67*
AG	4,35	10,0
AA	95,65	83,33

Примечание: \*  $p < 0,05$  в сравнении с контролем.

Кроме того, как видно из таблицы 2, частота аллеля А статистически не отличается в группе больных сахарным диабетом 2 типа и в контрольной группе (88,33 и 97,82 % соответственно), в то время, как частота аллеля G достоверно отлична в исследуемых

группах и составляет для больных сахарным диабетом 11,67 %, для здоровых лиц – 2,18 %. Таким образом, установлено, что аллель G гена TLR4 маркирует повышенный риск развития сахарного диабета 2 типа в изученной выборке.

Таблица 2

**Частота встречаемости различных аллелей у больных сахарным диабетом и здоровых лиц**

Генотип, аллель	Контрольная группа, абс.% (n=30)	Группа больных СД 2 типа, % (n=60)
G	2,18	11,67*
A	97,82	88,33

Примечание: \*  $p < 0,05$  в сравнении с контролем.

Следовательно, можно предположить, что индивидуумы, имеющие гомозиготный вариант гена GG, более предрасположены к развитию сахарного диабета 2 типа, что позволит обосновать новые методы ранней диагностики и профилактики сахарного диабета 2 типа.

Безусловно, приведенные данные свидетельствуют лишь о предрасположенности индивидуумов с конкретными генами к сахарному диабету 2 типа и, возможно, тяжести его протекания, однако, приведенные в литературных источниках примеры о связи некоторых аллелей со смертностью при сепсисе и с развитием атопии убеждают в серьезности данного подхода.

#### ВЫВОДЫ

1. Генотип GG имеют 6,67% больных, что достоверно отличается от группы контроля
2. Гетерозиготный вариант данного гена характерен для 10,0% больных, гомозиготы с А аллелем встречаются у 83,33% больных, что достоверно не отличается от группы контроля.
3. Аллель G гена TLR4 маркирует повышенный риск развития сахарного диабета 2 типа в изученной выборке

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н., В.В. Чопьяк, О.И. Рокита. Показатели системного иммунного воспаления у больных с острым инфарктом миокарда, осложненным ранней постинфарктной стенокардией // Укр. медицинский часопис. - 2005. - №3. - С.47-52.
2. Дзяк Г.В., Коваль Е.А. Клинико-иммунологические критерии оценки прогноза и лечения атеросклероза и ревматизма // Журнал АМН України. - 1998. - Т. 4, № 1. - С. 78-87.
3. Лутай М.И. . Атеросклероз: современный взгляд на патогенез. Укр. кардиол. журн. - 2004. - №1. - с. 22-34.
4. Kaski J.C., Zouridakis E.G. Inflammation, infection and acute coronary plaque events // Eur. Heart J. - 2001. - Vol. 3 (Suppl. I). - P. 10-15.
5. Koenig W. Atherosclerosis involves more than just lipids: focus on inflammation // Eur. Heart J. - 1999. - Vol. 1 (Suppl. T). - P. 19-26.
6. Maseri A., Cianflone D. Inflammation in acute coronary syndromes. // Eur. Heart J. - 2002. - Vol. 4. (Suppl. B). - P. 8-13.
7. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure // JAMA. - 2003. - v.289-P/2560-2572.
8. Grundy SM. Inflammation, hypertension, and the metabolic syndrome. JAMA. 2003;290:3000-3001.
9. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, et al. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. // New Engl J Med. - 1997. - v.336. P. 973-979.
10. Ridker, PM, Buring JF, Shih J, et al. Prospective study of C-reactive protein and risk of future cardiovascular events among apparently healthy women // Circulation. - 1998 v.98. - P.731-733.
11. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake. C-reactive protein and the risk of developing hypertension // JAMA. - 2003. - v.290. - P.2945-2951.
12. Vasan RS, Beiser A, Seshadri, S, et al. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men // JAMA. - 2002. - v.287. - P.1003-1010.
13. Pradhan A, Manson J, Rifai N, Buring J, Ridker P. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. JAMA. 2001;286:327-334.
14. Shinozaki K, Kashiwagi A, Masada M, Okamura T. Molecular mechanisms of impaired endothelial function associated with insulin resistance // Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord. - 2004. - v.4. - P.1-11.
15. Hsueh WA, Quinones MJ. Role of endothelial dysfunction in insulin resistance. Am J Cardiol. 2003;92:10J-17J.
16. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy R et al. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) // Circulation. - 2000. - v.102. - P. 42-47.
17. Barnes P.J.. Mediators of Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Pharmacol Rev. - 2004. - v.56. - P.515-548.
18. Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in CCR2<sup>-/-</sup> mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis // Nature. - 1998. - v.394. - 894-97 //
19. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Новый этап развития иммунологии // Природа. 2006. № 4.
20. Яковлев М.Ю. Системная эндотоксинемия в физиологии и патологии человека: Автореф. дис. .... - докт. мед. наук. М. 1993. 55с.
21. Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. - М.: Медицина, 1999. - 288 с.