ГЕНЕТИКА

УДК 575.17

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ФАКТОРОВ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ С ФОРМИРОВАНИЕМ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

О.Н. БЕЛОУСОВА

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: o_n_belousova@mail.ru

В статье изложены результаты изучения ассоциаций генетических полиморфизмов факторов некроза опухоли и их рецепторов с формированием сахарного диабета 2 типа. Установлены значимые взаимосвязи генетических полиморфизмов (+250 A/GLta, -308 G/ATNFa, +36 A/GTNFR1, +1663 A/GTNFR2) с развитием сахарного диабета 2 типа.

Ключевые слова: гены факторов некроза опухоли, рецепторы факторов некроза опухоли, лимфотоксин α, сахарный диабет 2 типа, патогенетические эффекты.

Проблема сахарного диабета 2 типа является одной из важнейших в современной медицине. В настоящий момент в мире наблюдается непрерывный рост заболеваемости по данной патологии. Так сахарный диабет 2 типа составляет 85-90% от всех случаев сахарного диабета [1,3]. В нашей стране при выявляемости одного пациента с сахарным диабетом еще два человека имеют не диагностированное заболевание. Сахарный диабет относится к мультифакториальным заболеваниям и его развитие зависит как от генетических факторов, так и факторов окружающей среды [2]. Характерным проявлением сахарного диабета 2 типа является нарушение углеводного обмена, которое проявляется повышенным уровнем гликемии. Важную роль в патогенезе СД2 играет ожирение, так как жировая ткань участвует в процессе системного воспаления, стимулируя синтез провоспалительных цитокинов: факторов некроза опухоли и их рецепторов, лимфотоксина-а [4,5,9].

Цель работы – исследовать ассоциации генетических полиморфизмов факторов некроза опухоли и их рецепторов с формированием сахарного диабета 2 типа.

Исследование ассоциаций полиморфных маркеров генов фактора некроза опухоли α (-308G/A TNFα), лимфотоксина α (+250 A/G Ltα), рецепторов фактора некроза опухоли первого и второго типов (+36 A/G TNFR1 и +1663 A/G TNFR2) проводили на выборке из 543 индивидуумов, из них 236 больных СД2 и 308 человек контрольной группы. Результаты генотипирования данных индивидуумов по локусам *-308 G/ATNFα, +250A/GLtα*, +36A/GTNFR1, +1663 A/GTNFR2 представлены в табл.1 .

Изучение частот генотипов изучаемых генетических маркеров показало, что для всех рассмотренных локусов в популяционной выборке и в группе больных СД2 эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (p>0,05). Уровень аллельного разнообразия по рассматриваемым локусам варьировал от H_o=0,18 (для локуса *-308 G/ATNFα*) до H_o=0,53 (для локуса +36A/GTNFR1) в популяционной выборке и от H_o=0,22 (*-308 G/ATNFα*) до H_o=0,46 (+1663A/GTNFR2) среди больных СД2.

Проведённый сравнительный анализ распределения рассматриваемых генетических полиморфизмов в исследуемых выборках в зависимости от их пола (мужской и женский) не выявил достоверных различий по концентрации генотипов и аллелей молекулярно-генетических маркеров факторов некроза опухоли и их рецепторов как среди больных СД2 (табл. 2), так и в контроле (табл. 3). Поэтому при дальнейшем анализе мы рассматривали объединённые выборки как больных, так и контроля (табл. 4).

Таблица 1

Распределение генотипов, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, индекса фиксации полиморфных маркеров генов факторов некроза опухоли и их рецепторов среди больных СД2 и в популяционном контроле

Локусы, показатели	Контрольная группа (n=308)	Больные (n=236)
1	2	3
-308G/A TNFα		
ΣN	303	236
N_o		
-308GG	242	176
-308GA	55	53
-308AA	6	7
N_E		
-308GG	239,7	17,76
-308GA	59,59	57,49
-308AA	3,70	4,76
χ^2(HWE)	1,79	1,43
p	>0,05	>0,05
H_o	0,18	0,22
H_E	0,19	0,24
D	-0,07	-0,07
t	0,51	0,53
+250A/G Ltα		
ΣN	307	236
N_o		
-250AA	180	129
-250AG	113	83
-250GG	14	24
N_E		
-250AA	182,19	123,18
-250AG	108,62	94,64
-250GG	16,19	18,18
χ^2(HWE)	0,49	3,57
p	>0,05	>0,05
H_o	0,36	0,35
H_E	0,35	0,40
D	+0,04	-0,12
t	0,43	1,36
+36A/G TNFR1	308	
ΣN		236
No	66	
-36AA	166	66
-36AG	76	106

Продолжение табл. 1

1	2	3
-36GG		64
N_E	72,08	
ΣN	308	236
No		
-36AA	66	66
-36AG	166	106
-36GG	76	64
N_E		
-36AA	72,08	60,00
-36AG	53,84	117,99
-36GG	82,08	58,00
χ2(HWE)	1,93	2,43
p	>0,05	>0,05
Ho	0,53	0,44
H_E	0,49	0,50
D	+0,07	-0,1
t	0,88	1,56
+1663A/G TNFR2		
ΣN	305	236
No		
+1663 GG	101	81
+1663 AG	138	110
+1663 AA	66	45
NE		
+1663GG	94,75	78,87
+1663 AG	150,48	115,25
+1663 AA	59,75	42,37
χ2(HWE)	2,1	0,49
p	>0,05	>0,05
Ho	0,43	0,46
HE	0,49	0,48
D	-0,08	-0,04
t	1,41	0,66

Примечание: **ΣN** – объем выборки;**N_o** – наблюдаемое распределение фенотипов; **N_E** – ожидаемое распределение фенотипов; **$\chi^2_{(HWE)}$** – показатель соответствия наблюдаемого распределения ожидаемому, исходя из равновесия Харди-Вайнберга; **p** – достигнутый уровень значимости для $\chi^2_{(HWE)}$; **H_o** – наблюдаемая гетерозиготность; **H_E** – ожидаемая гетерозиготность;**D** – индекс фиксации Райта; **t**– критерий Стьюдента, характеризующий индекс фиксации

Таблица 2

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов факторов некроза опухоли и их рецепторов у больных СД2 в зависимости от пола

Локусы	Генотипы, аллели	Больные СД2 (n=236)				
		Женщины (n=172)		Мужчины (n=64)		χ2,(p)
		n	%	n	%	
+250A/G Ltα	+250 A	253	73,55	88	68,75	0,84, (0,35)
	+250 G	91	26,45	40	31,25	
	+250 AA	97	56,39	32	50,00	0,53,(0,46)
	+250 AG	59	34,30	24	37,50	0,09, (0,76)
	+250 GG	16	9,31	8	12,50	0,23, (0,63)
-308G/A TNFα	-308 G	297	86,34	108	84,38	0,15, (0,69)
	-308 A	47	13,66	20	15,63	
	-308 GG	130	75,58	46	71,87	0,17, (0,67)
	-308 GA	37	21,51	16	25,00	0,15, (0,69)
	-308 AA	5	2,90	2	3,13	0,00, (1,00)
+36A/G TNFR1	+36 G	179	52,03	69	53,91	0,06, (0,79)
	+36 A	165	47,97	59	46,09	
	+36 GG	50	29,06	16	25,00	0,20, (0,64)
	+36 AG	79	45,93	27	42,18	0,13, (0,71)
	+36 AA	43	25,01	21	32,81	1,07, (0,30)
+1663A/G TNFR2	+1663 G	199	57,85	73	57,03	0,00, (1,00)
	+1663 A	145	42,15	55	42,97	
	+1663 GG	63	36,62	18	28,12	1,14, (0,28)
	+1663 AG	73	42,44	37	57,81	3,83, (0,06)
	+1663 AA	36	20,93	9	14,06	1,01, (0,31)

Таблица 3

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов факторов некроза опухоли и их рецепторов в контрольной группе в зависимости от пола

Локусы	Генотипы, аллели	Контроль (n=308)				
		Женщины (n=226)		Мужчины (n=82)		χ2, (p)
		n	%	n	%	
+250 A/G Lta	+250 A	342	76,00	131	79,88	0,81, (0,36)
	+250 G	108	24,00	33	20,12	
	+250 AA	128	56,88	52	63,41	0,80, (0,37)
	+250 AG	86	38,22	27	32,92	0,51, (0,47)
	+250 GG	11	4,90	3	3,67	0,02, (0,88)
-308 G/A TNFα	-308 G	396	88,79	143	89,38	0,00, (0,99)
	-308 A	50	11,21	17	10,63	
	-308 GG	178	79,82	64	80,00	0,00, (1,00)
	-308 GA	40	17,93	15	18,75	0,01, (0,91)
	-308 AA	5	2,25	1	1,25	0,00, (0,93)
+36 A/G TNFR1	+36 G	233	51,55	85	51,83	0,00, (1,00)
	+36 A	219	48,45	79	48,17	
	+36 GG	56	24,77	20	24,39	0,00, (1,00)
	+36 AG	121	53,53	45	54,87	0,00, (0,93)
	+36 AA	49	21,70	17	20,74	0,00, (0,98)
+1663A/G TNFR2	+1663 G	218	57,07	122	53,51	0,57, (0,45)
	+1663 A	164	42,93	106	46,49	
	+1663 GG	66	34,55	35	30,70	0,32, (0,57)
	+1663 AG	86	45,04	52	45,62	0,00, (1,00)
	+1663 AA	39	20,41	27	23,68	0,27, (0,59)

Таблица 4

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов факторов некроза опухоли и их рецепторов у больных СД2 и в контрольной группе

Локусы	Аллели, генотипы	Больные СД 2 (n=236)		Контрольная группа (n=308)		OR (95% CI)
		n	%	n	%	
+250A/G Ltα	+250 A	341	72,25	473	77,04	0,77 (0,58-1,03) χ^2=3,01; p=0,08
	+250 G	131	27,75	141	22,96	1,29 (0,97-1,74) χ^2=3,01; p=0,08
	+250 AA	129	54,66	180	58,63	0,85 (0,59-1,81) χ^2=0,70; p=0,40
	+250 AG	83	35,16	113	36,80	0,93 (0,64-1,34) χ^2=0,09; p=0,76
	+250 GG	24	10,18	14	4,57	**2,36 (1,14-4,95) χ^2=5,61; p=0,01**
-308G/A TNFα	-308 G	405	85,81	539	88,94	0,75 (0,91-1,94) χ^2=2,12; p=0,14
	-308 A	67	14,19	67	11,06	1,33 (0,51-1,09) χ^2=2,12; p=0,14
	-308 GG	176	74,57	242	79,87	0,73 (0,48-1,13) χ^2=1,84; p=0,17
	-308 AG	53	22,45	55	18,15	1,30 (0,83-2,05) χ^2=1,27; p=0,25
	-308 AA	7	2,98	6	1,98	1,51 (0,45-5,15) χ^2=0,20; p=0,64
+36A/G TNFR1	+36 G	237	50,42	318	51,62	0,94 (0,73-1,21) χ^2=0,16; p=0,68
	+36 A	235	49,58	298	48,38	1,05 (0,82-1,35) χ^2=0,16; p=0,68
	+36 GG	66	27,96	76	24,68	1,18 (0,79-1,77) χ^2=0,58; p=0,44
	+36 AG	106	44,91	166	53,89	0,69 (0,48-0,99) χ^2=3,95; p=0,04
	+36 AA	64	27,13	66	21,43	1,36 (0,90-2,06) χ^2=2,07; p=0,15
+1663A/G TNFR2	+1663 G	272	57,63	341	55,74	1,07 (0,83-1,37) χ^2=0,25; p=0,61
	+1663 A	200	42,37	269	44,26	0,93 (0,72-1,19) χ^2=0,25; p=0,61
	+1663 GG	81	34,32	101	33,12	1,05 (0,72-1,53) χ^2=0,04; p=0,83
	+1663 AG	110	46,61	138	45,24	1,05 (0,74-1,50) χ^2=0,05; p=0,81
	+1663 AA	45	19,07	66	21,64	0,85 (0,54-1,33) χ^2=0,39; p=0,53

Установлена более высокая частота генетического варианта +250GG лимфотоксина α(10,18%) среди больных СД2 по сравнению с контрольной группой, где анализируемый показатель составил 4,57% (χ2=5,61, p=0,01, с учётом поправки Бонферрони pcor= 0,03) (табл. 4). Выявленные различия в распространенности генотипа +36AGTNFR1 между больными СД2 (44,91%) и популяционным контролем (53,89%, p=0,04) при введении поправки Бонферрони, минимизирующей вероятность ложноположительных результатов (ошибки 1-го рода) не достигают статистически достоверного уровня (pcor=0,12). По другим исследуемым генетическим полиморфизмам достоверных различий в концентрациях алалелей и генотипов не обнаружено (p>0,05).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важной роли полиморфного маркера +250 GG лимфотоксина α в формировании сахарного диабета 2 типа. Наличие генотипа +250 GGLtα обусловливает повышенный риск развития сахарного диабета 2 типа (OR=2,36). Следует отметить, что полученные нами данные соответствуют литературным материалам о медико-биологическом значении лимфотоксина α в организме. При этом следует подчеркнуть, что генотип +250GGLtα контролирует повышенную продукцию лимфотоксина α. Поэтому у индивидуумов с данным маркером мы можем ожидать и более выраженные этиопатогенетические эффекты лимфотоксина α.

Литература

1. Проблемы эндокринологии./В.В. Носиков [и др.]-2002.-№4.- С.10-13.
2. Phosphorylation of serine307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptors and inhibits insulin action / Aguirre V. [et al.]// J.Biol.Chem. – 2002.- Vol. 277. – P. 1531-1537.
3. Проблемы эндокринологии. ./В.В. Носиков [идр.]. – 2002.-№4.- С.10-13.
4. Генетика человека./ Н.Ю. Якунина [идр.]//-2005.-Т.51, №7.-С.931-937.
5. Verstrepen L, Bekaert T, Chau TL, Tavernier J, Chariot A, Beyaert R (June 2008). «TLR-4, IL-1R and TNF-R signaling to NF-kappaB: variations on a common theme».
6. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2011. Diabetes Care. 2011; 34 Suppl 1:S11-S61.
7. Pignone M, Alberts MJ, colwell JA, Cushman M, Inzucchi SE, Mukherjee D, et al. Aspirin for primary prevention of cardiovascular events in people with diabetes: a position statement of the American Diabetes Association, a scientific statement of the American Heart Association, and an expert consensus document of the American College of Cardiology Foundation. Circulation. – 2010. – №121. – P. 2694-2701.
8. Farmer, A.J., Perera, R, Ward, A, Heneghan, C, Oke, J, Barnett, AH, Davidson, MB, Guerci, B, Coates, V, Schwedes, U, O'Malley, S (2012 Feb 27). "Meta-analysis of individual patient data in randomised trials of self monitoring of blood glucose in people with non-insulin treated type 2 diabetes.". BMJ (Clinical research ed.) 344: e486.
9. Micheau O, Tschopp J (July 2003). "Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes". Cell 114 (2): 181–90.

RESEARCH OF ASSOCIATIONS OF GENETIC POLYMORPHISMS OF FACTORS OF A NECROSIS OF A TUMOR AND THEIR RECEPTORS WITH FORMATION OF DIABETES 2 TYPES

O.N.BELOUSOVA

Belgorod National Research University

e-mail: o_n_belousova@mail.ru

In article results of studying of genetic polymorphisms of tumor necrosis factors their receptors associations with formation of type 2 diabetes are stated. Significant interrelations of genetic polymorphisms (+250 A/G Lta,-308 G/A TNFa, +36 A/G TNFR1, +1663 A/G TNFR2) with development of type 2 diabetes and its complications are established.

Key words: genes of tumor necrosis factors, receptors of tumor necrosis factors, lymphotoxin a, type 2 diabetes, pathogenetic effects.