УДК:616.379-008.64

Изучение гена инсулина у детей с инсулинозависимым сахарным диабетом в азербайджанской популяции

Г.А. Ахмедов
Азербайджанский Медицинский Университет, г. Баку

Инсулинозависимый сахарный диабет является аутоиммунным заболеванием. У лиц с идентичным генотипом частота его встречаемости может составлять до 70%. В наследственной передаче заболевания принимают участие особые локусы, которые получили название IDDM1, IDDM2 и т.д. К локусу IDDM2 относится ген INS.
Цель исследования: **изучение гена инсулина у представителей азербайджанской популяции.**
Материалы и методы. **Ген инсулина был изучен у 160 детей, больных сахарным диабетом (СД) 1-го типа, и у 271 здорового азербайджанца. Из 160 больных 50,6% (n=81) составили мальчики, 49,4% (n=79) – девочки. Все больные СД были в возрасте до 18 лет. Средний возраст больных составил 9,1 года. Обследование проводили на базе детской клинической больницы № 6 г. Баку. Для всех пациентов была заполнена специальная карта опроса. В исследование были включены только дети азербайджанской национальности. В качестве группы сравнения был привлечен 271 учащийся Медицинского Колледжа № 1 г.Баку. Из них: 29,1% (n=79) составили мальчики, 70,9% (n=192) девочки.**
Результаты. **Собранные образцы крови были отправлены для дальнейшего исследования в медико-генетическую лабораторию университетской больницы Motol при университете Charles, расположенном в г. Прага (Чехия).**
Заключение. **Согласно полученным в ходе нашего исследования данным, можно утверждать, что в азербайджанской популяции ген инсулина -23*Hph*I не влияет на развитие сахарного диабета.**
Ключевые слова: *сахарный диабет, ген инсулина, дети.*

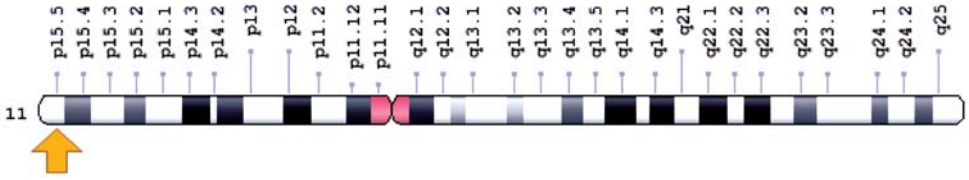
Ген инсулина расположен в 15.5-й позиции короткого плеча 11-й хромосомы. Данный ген принимает участие в синтезе молекулы инсулина. Ген инсулина известен также и под другими названиями: IDDM; ILPR; IRDN; IDDM1; IDDM2; MODY10 (рисунок). Существует около 10 мутаций гена инсулина, которые являются причиной развития в неонатальном периоде неонатального сахарного диабета.

Ген инсулина был открыт в 1980 году XX века. Он состоит их нуклеотидной пары 1430 bp («bp» – *base pair*, в переводе с английского означает «пара»). Промоторная часть гена инсулина представлена тремя видами аллелей. Первый контакт РНК-полимеразы происходит именно с промоторной частью гена. В этой части гена после промотора находится зона активатора или репрессора, способная к узнаванию РНК-полимеразы. Эта часть называется оператором. Активаторная часть оператора узнает соответствующую часть РНК-полимеразы, и только лишь после соединения с ней запускается транскрипция данного белка. В конце гена расположена терминальная часть, где и происходит завершение транскрипции. Часть гена сначала промотора и до конца терминатора называется опероном. Зона от оператора до терминатора называется геном.

Ген инсулина состоит из двух частей: VNTR (Variable Number Tandem Repeat – вариабельные тандемные повторы) и INS (Insulin). Часть гена VNTR состоит из трех классов аллелей: I, II, III. INS состоит из 4 компонентов: сигнальный пептид, B-цепь, C-регион, A-цепь [1].

Ген инсулина состоит из 3 экзонов и 2 интронов. Эти 3 экзона предназначены для сигнального пептида, C-пептида, A-цепи и B-цепи [2]. Фактор транскрипции связывается с промоторной частью гена, что приводит к образованию сложного комплекса транскрипции, а он, в свою очередь, имеет значительное влияние на β-клетки [3]. Синтез инсулина стимулируется глюкозой [4, 5]. Фактор транскрипции Pur1 бывает связан с промоторной частью гена инсулина VNTR (variable number of tandem repeats – вариабельные тандемные повторы, то есть повторение одних и тех же аминокислот в одном и том же порядке при передаче, причем это число может быть разным) [6]. Полиморфизм VNTR делится на 3 группы в зависимости от числа повторяющихся аминокислотных групп: в I группе имеется 26–63, во II группе – 4–140, а в III группе 141–209 аминокислотных последовательностей. II группа встречается у 2% европейцев. В то же время, для афроамериканского генотипа она более характерна и обнаруживается в 22% случаев [7].

Инсулинозависимый сахарный диабет (ИЗСД) является аутоиммунным заболеванием, и у лиц с идентичным генотипом частота его встречаемости может составлять до 70% [8]. В наследственной передаче заболевания принимают участие особые локусы, которые получили название IDDM1, IDDM2 и т.д. В развитии сахарного диабета участвуют около 20 хромосом [9]. К локусу IDDM1 относятся гены II класса системы HLADR и DQ. Эти гены составляют 40–50% риска для развития диабета. К локусу IDDM2 относится ген INS. Эта часть генотипа составляет 10% риск в передаче ИЗСД [10]. У 75–85% больных сахарным диабетом встречается I группа аллелей VNTR, у 10–15% – III группа аллелей.



11-я хромосома, участок гена инсулина

Частоты генотипов, фенотипов и аллелей гена инсулина

Генетический маркер *-23HphI* гена инсулина	Основная группа, n=160 (%)	Контрольная группа, n=271 (%)	Отношение шансов	P
Частоты генотипов				
-23HphI "+/+" A/A	135 (84,4)	163 (60,1)	3,6 (2,2-5,9)	$<10^{-6}$
-23HphI "+/-" A/T	22 (13,8)	99 (36,5)	0,28 (0,17-0,46)	$<10^{-6}$
-23HphI "-/-" T/T	3 (1,9)	9 (3,3)	0,56 (0,15-2,0)	0,56
Частоты фенотипов 0,56				
-23HphI "+" A	157 (98,1)	262 (96,7)	1,8 (0,48-6,7)	0,56
-23HphI "-" T	25 (15,6)	108 (39,9)	0,28 (0,17-0,46)	$<10^{-6}$
Частоты аллелей n=320, n=542				
-23HphI "+" A	292 (91,3)	425 (78,4)	2,9 (1,9-4,4)	$<10^{-5}$
-23HphI "-" T	28 (8,8)	117 (21,6)	0,35 (0,22-0,54)	$<10^{-5}$

Примечание: «+/+» A/A; «+/-« A/T; «-/-« T/T; «+» A; «-» T.

В большинстве случаях I группа аллелей предрасполагает к диабету, а III группа носит протективный характер [11, 12]. VNTR представляет собой очень полиморфный участок.

T-аллель гена -23*Hph*I считается эквивалентом III класса VNTR, а аллель A I класса TTAVS. A-аллель гена -23*Hph*I соединяется с I классом аллелей VNTR, а аллель T – с III классом аллелей VNTR. Ген -23*Hph*I расценивается как суррогат класса (rs689) VNTR, поскольку существует тесная связь между -23*Hph*I и VNTR [12]. Согласно данным исследования, проведенного среди 5646 африканцев, 68,3% (n=3859) обследованных оказались гомозиготными носителями аллеля A, 29,2% (n=1646) гетерозиготными, а 2,5% (n=141) – носителями аллеля T [13]. LeStunff и соавторы показали, что генотип -23A у европейцев коррелирует с повышенной массой тела и нарушением секреции инсулина [13]. T-аллель гена -23*Hph*I встречается в основном у 17% финнов и других представителей европейской популяции [14, 15].

У национальностей с более высоким процентом встречаемости аллелей III класса VNTR чаще наблюдаются такие заболевания, как ожирение, инсулинонезависимый ИЗСД,, синдром поликистозных яичников и др. [16–19]. Ген инсулина располагается рядом с геном ИФР-2 (инсулиноподобный фактор роста). В раннем возрасте инсулин воздействует на развитие ребенка. Аллели VNTR непосредственно влияют на ген ИФР-2. По данным исследования ALSPAC (Avon Longitudinal Study of Parentsand Children, n=1049) у детей с преобладанием аллелей III класса VNTR физическое развитие происходит более интенсивно [20]. Эти дети рождаются с большим весом и имеют склонность к ожирению. Однако в других исследованиях, проведенных среди различных национальностей, эта закономерность не нашла подтверждения [21, 22].

Osava и соавторы [23] выявили, что у 97,4% японцев встречается аллель 23T. У европейцев же он обнаруживается лишь в 30% случаев. У японцев генотип A/A встречается гораздо чаще и коррелирует с секрецией инсулина. Японцы по сравнению с европейцами продуцируют меньше инсулина [23].

LeStunff и соавторы [24] установили, что у молодых людей с ожирением чаще обнаруживаются гомозиготные аллели I класса INS VNTR, и в связи с этим они секретируют больше инсулина. Генотип 23 HphI INS +/+ с большей частотой встречается у больных с диабетом, что может объясняться нарушением секреции инсулина ($p<0,05$). С другой стороны, у таких больных реже наблюдается генотип HLA DQB1 [25]. Под полиморфизмом гена -23HphI понимают замену тиамина в позиции 2401 на аденин [26].

В одном из исследований, проведенных в Великобритании, в котором была изучена взаимосвязь между диабетом и генотипом на примере 228 больных диабетом и 441 здоровых лиц было установлено, что наличие гомозиготных аллелей I класса VNTR предрасполагает к диабету (отношение шансов 2,68), а гомозиготные аллели III класса VNTR имеют протективный характер [27].

Ген инсулина расположен в 11-й хромосоме (11p15.5) между генами тирозин-гидроксилазы (ТГ) и инсулиноподобного фактора роста-2 (ИФР-2). Считающийся изменчивой частью гена инсулина VNTR расположен на проксимальной промоторной части гена инсулина, состоит из повторяющихся в виде тандемов (пар) аминокислот размером 14-15 bp и влияет на синтез инсулина [28].

Цель исследования: изучение гена инсулина у представителей азербайджанской популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ген инсулина был изучен у 160 детей, больных СД 1-го типа, и у 271 здорового азербайджанца. Из 160 больных 50,6% (n=81) составили мальчики, 49,4% (n=79) – девочки. Все больные СД были в возрасте до 18 лет. Диагноз СД был верифицирован согласно рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения. Средний возраст больных составил 9,1 года. Дети были разделены на следующие возрастные группы: 0–4 года (n=18), 5–9 лет (n=63), 10–14 лет (n=72), 15–18 лет (n=7). Обследование проводили на базе детской клинической больницы № 6 г. Баку. Для всех пациентов была заполнена специальная карта опроса. В исследование были включены только дети азербайджанской национальности.

В качестве группы сравнения был привлечен 271 учащийся Медицинского Колледжа № 1 г. Баку. Из них: 29,1% (n=79) составили мальчики, 70,9% (n=192) – девочки. В контрольную группу не были включены дети, имеющие эндокринные заболевания. Помимо этого, обследуемые как в основной группе, так и в контрольной не проживали на одной территории. Перед проведением необходимых исследований было получено письменное согласие как от самих обследуемых (от здоровых детей и от больных), так и от их родителей, а также соответствующее разрешение со стороны этического комитета. Статистическую обработку данных проводили путем определения χ^2 с помощью теста Yates и его коррекции, а также с помощью точного теста Фишера. Для данных показателей были вычислены отношение шансов, доверительный интервал и доверительная вероятность p. Различия считались достоверными при p=0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Взятые для анализа пробы крови хранились при температуре -20°С, а затем обрабатывались при помощи реактива QЭAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Собранные образцы крови были отправлены для дальнейшего исследования в медико-генетическую лабораторию университетской больницы Motol при университете Charles, расположенном в г. Прага (Чехия). Данная лаборатория имеет европейский сертификат для проведения молекулярно-генетических исследований.

Полученные в ходе исследования результаты изложены в таблице.

При гомозиготной форме гена инсулина -23*Hph*I (см. таблицу) А/А отношение шансов составило 3,6 (2,2–5,9; p<0,0001), при гетерозиготной форме А/Т -0,28 (0,17–0,46; p<0,0001) оказался высоким показатель достоверности, при гомозиготной форме Т/Т отношение шансов составило 0,56 (0,15–2,0; p>0,05), достоверности установлено не было. В отдельности по Т аллелю маркера гена -23*Hph*I отношение шансов фенотипических частот составило 0,28 (0,17–0,46; p<0,0001) показатель достоверности был достаточно высоким, однако отношение шансов для фенотипических частот аллеля А было 0,28 (0,17–0,46; p>0,05), но достоверности не отмечалось. Для аллелей А и Т маркера гена -23*Hph*I по сравнению со здоровыми отношение шансов составило соответственно 2,9 (1,9–4,4; p<0,0001) и 0,35 (0,22–0,54), показатели были достоверны.

ВЫВОДЫ

Согласно полученным в ходе нашего исследования данным, можно утверждать, что в азербайджанской популяции ген инсулина -23*Hph*I не влияет на развитие сахарного диабета.

Конфликт интересов не заявляется.

Вивчення гена інсуліну у дітей з інсулінозалежним цукровим діабетом в азербайджанській популяції

Г.А. Ахмедов

Інсулінозалежний цукровий діабет є аутоімунним захворюванням. В осіб з ідентичним генотипом частота його зустрічальності може становити до 70%. У спадковій передачі захворювання беруть участь особливі локуси, які отримали назву IDDM1, IDDM2 та ін. До локусу IDDM2 належить ген INS.

Мета дослідження: вивчення гена інсуліну у представників азербайджанської популяції.

Матеріали та методи. Ген інсуліну був вивчений у 160 дітей, хворих на цукровий діабет (ЦД) 1-го типу, та у 271 здорового азербайджанця. З 160 хворих 50,6% (n=81) склали хлопчики, 49,4% (n=79) – дівчата. Усі хворі на ЦД були віком до 18 років. Середній вік хворих склав 9,1 року. Обстеження проводили на базі дитячої клінічної лікарні № 6 м. Баку. Для всіх пацієнтів була заповнена спеціальна карта опитування. У дослідження були включені тільки діти азербайджанської національності. У групу порівняння увійшов 271 учень Медичного Коледжу № 1 м. Баку. З них: 29,1% (n=79) склали хлопчики, 70,9% (n=192) – дівчата.

Результати. Зібрані зразки крові були відправлені для подальшого дослідження у медико-генетичну лабораторію університетської лікарні Motol при університеті Charles, розташованому у м. Прага (Чехія).

Заключення. Згідно з отриманими у ході нашого дослідження даними, можна стверджувати, що в азербайджанській популяції ген інсуліну *-23HphI* не впливає на розвиток цукрового діабету.

Ключові слова: *цукровий діабет, ген інсуліну, діти.*

Study of the insulin gene in children with insulin-dependent diabetes mellitus in the Azerbaijani population

G.A. Ahmadov

Insulin-dependent diabetes mellitus is autoimmune disease and in persons with an identical genotype frequency of its occurrence can be up to 70%. In the hereditary transmission of the disease, special loci are involved, which are called IDDM1, IDDM2, etc. The IDDM2 gene belongs to the INS gene.

The objective: the study of the insulin gene in representatives of the Azerbaijani population.

Patients and methods. The insulin gene was studied in 160 children with diabetes mellitus type 1, and in 271 healthy people from the Azerbaijani population. Of the 160 patients, 50.6% (n = 81) were boys, 49.4% (n = 79) were girls. All patients with diabetes were under the age of 18 years. The average age of the patients was 9.1 years. The survey was conducted on the basis of children's clinical hospital number 6 in Baku city. For all patients, a special questionnaire was filled out. Only children of Azerbaijani nationality were included in the study. As a comparison group, 271 students from the Medical College No. 1 in Baku were involved. Of these: 29.1% (n = 79) were boys, 70.9% (n = 192) girls.

Results. Collected blood samples were sent for further study by the medical-genetic laboratory of the University Hospital of Motol at Charles University, located in the city of Prague (Czech Republic).

Conclusion. According to the data obtained in our study, it can be argued that in the Azerbaijani population the insulin gene-23HphI does not play a role in the development of diabetes mellitus.

Key words: *diabetes mellitus, insulin gene, children.*

Сведения об авторе

Ахмедов Гюндуз Ахмед оглы – Кафедра «Детские болезни II» Азербайджанского медицинского университета г. Баку. *E-mail: gunduzahmadov@gmail.com*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. https: //ghr. nlm. nih. gov/ gene/ INS#location
2. Bell G.I., Pictet R.L., Rutter W.J., Cordell B., Tischer E., and Goodman H.M. (1980) Nature 284, 26–32.
3. Ohneda K., Ee H., and German M. (2000) Semin. CellDev. Biol. 11, 227–233.
4. Itoh N. and Okamoto H. (1980) Nature 283, 100–102.
5. Welsh M., Nielsen D.A., MacKrell A.J., and Steiner D.F. (1985) J. Biol. Chem. 260, 13590–13594.
6. Bell G.I., Selby M.J., and Rutter W.J. (1982) Nature 295, 31–35.
7. Bell G.I., Horita S., and Karam J.H. (1984) Diabetes 33, 176–183. Hammond-Kosack M.C., and Docherty K. (1992) FEBS Lett. 301, 79–82.
8. Redondo, M. J., Yu, L., Hawa, M., Mackenzie, T., Pyke, D. A., Eisenbarth, G. S., and Leslie, R. D. (2001) Diabetologia 44, 354 – 362.
9. Onengut-Gumuscu S., and Concannon P. (2002) Immunol. Rev. 190, 182–194.
10. Bennett S.T., and Todd J.A. (1996) Annu. Rev. Genet. 30, 343–370.
11. Pugliese A., Awdeh Z.L., Alper C.A., Jackson R.A., and Eisenbarth G.S. (1994) J. Autoimmun. 7, 687–694.
12. Bennett S.T., Wilson A.J., Cucca F., Nerup J., Pociot F., McKinney P.A., Barnett A.H., Bain .C., and Todd J.A. (1996) J. Autoimmun. 9, 415–421.
13. Stead JD, Jeffreys AJ: Structural analysis of insulin minisatellite alleles reveals unusually large differences in diversity between Africans and non-Africans. Am J Hum Genet 71: 1273 –1284, 2002.
14. Metcalfe KA, Hitman GA, Fennessy MJ, McCarthy MI, Tuomilehto J, Tuomilehto-Wolf E: In Finland insulin gene region encoded susceptibility to IDDM exerts maximum effect when there is low HLA-DR associated risk: DiMe (Childhood Diabetes in Finland) Study Group. Diabetologia 38 :1223 –1229,1995.
15. Undlien DE, Bennett ST, Todd JA, Akselsen HE, Ikдheimo I, Reijonen H, Knip M, Thorsby E, Rшnningen KS: Insulin gene region-encoded suscepti-

bility to IDDM maps upstream of the insulin gene. Diabetes 44: 620 – 625, 1995.
16. Bennett ST, Todd JA: Human type 1 diabetes and the insulin gene: principles of mapping polygenes.Annu Rev Genet30:343 –370,1996.
17. Huxtable SJ, Saker PJ, Haddad L, Walker M, Frayling TM, Levy JC, Hitman GA, O'Rahilly S, Hattersley AT, McCarthy MI: Analysis of parent-offspring trios provides evidence for linkage and association between the insulin gene and type 2 diabetes mediated exclusively through paternally transmitted class III variable number tandem repeat alleles. Diabetes 49: 126 –130,2000
18. Waterworth DM, Bennett ST, Gharani N, McCarthy MI, Hague S, Batty S, Conway GS, White D, Todd JA, Franks S, Williamson R: Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. Lancet 349 : 986 –990, 1997.
19. Le Stunff C, Fallin D, Bougnиres P: Paternal transmission of the very common class I INS VNTR alleles predisposes to childhood obesity. Nat Genet29 :96 –99,2001
20. Dunger DB, Ong KK, Huxtable SJ, Sherriff A, Woods KA, Ahmed ML, Golding J, Pembrey ME, Ring S, Bennett ST, Todd JA, ALSPAC Study Team: Association of the INS VNTR with size at birth: Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. Nat Genet19 :98 –100,1998.
21. Mitchell SM, Hattersley AT, Knight B, Turner T, Metcalf BS, Voss LD, Davies D, McCarthy A, Wilkin TJ, Smith GD, Ben-Shlomo Y, Frayling TM: Lack of support for a role of the insulin gene variable number of tandem repeats minisatellite (INS-VNTR) locus in fetal growth or type 2 diabetes-related intermediate traits in United Kingdom populations. J ClinEndocrinol Metab 89:310 –317,2004
22. Ong KK, Petry CJ, Barratt BJ, Ring S, Cordell HJ, Wingate DL, the Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood Study Team, Pembrey ME, Todd JA, Dunger DB: Maternal-fetal interactions and birth order influence insulin variable number of tandem repeats allele class associations with head size at birth and childhood weight gain. Diabetes 53: 1128 – 1133,2004
23. Osawa H, Onuma H, Murakami A, Ochi M, Nishimiya T, Kato K, Shimizu I, Fujii Y, Ohashi J, Makino H. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the insulin gene: evidence for a high frequency of -23T-A in Japanese subjects. Biochem Biophys Res Commun. 2001; 286:451–455.
24. C Le Stunff et al. The Insulin Gene VNTR Is Associated With Fasting Insulin Levels and Development of Juvenile Obesity. Nat Genet 26 (4), 444–446.
25. Halminen M, Veijola R, Reijonen H, Ilonen J, Akerblom HK, Knip M. Effect of polymorphism in the insulin gene region on IDDM susceptibility and insulin secretion. The Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. Eur J Clin Invest.1996 Oct;26(10):847–52.
26. The Insulin Gene Variable Number Tandem Repeat and Risk of Type 2 Diabetes in a Population-Based Sample of Families and Unrelated Men and Women – See more at: http: //press. endocrine. org/doi/
27. full/10.1210/jc.2004-1212 #sthash. K8WUB21p.dpuf
28. Bennett ST1, Wilson AJ, Cucca F, Nerup J, Pociot F, McKinney PA, Barnett AH, Bain SC, Todd JA. IDDM2-VNTR-encoded susceptibility to type 1 diabetes: dominant protection and parental transmission of alleles of the insulin gene-linked minisatellite locus. J Autoimmun. 1996 Jun;9(3):415–21.
29. Kennedy GC, German MS, Rutter WJ. The mini- satellite in the diabetes susceptibility locus IDDM2 regulates insulin transcription. Nat Genet 1995; 9:293–298.

Статья поступила в редакцию 07.04.17

НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

ИССЛЕДОВАНИЕ: КИШЕЧНЫЕ БАКТЕРИИ СПОСОБНЫ ВЫЗВАТЬ ИНСУЛЬТ

Кишечные бактерии способны вызвать инсульт, выяснили исследователи.

Исследование было проведено на генетически измененной линии мышей, склонных к развитию сосудистых поражений в мозге.

Ранее было установлено, что кишечные бактерии способны приводить к проблемам с сосудами головного мозга, в частности - вызывать каверозные мальформации, клинические проявления которых варьируются от полного отсутствия симптомов до внутричерепных кровоизлияний. Унаследованные формы этой патологии связаны с мутациями, подавляющими гены, которые регулируют рост клеток мозга.

Наблюдая за двумя популяциями мышей на протяжении нескольких поколений, исследователи выяснили, что даже при сохранении опасных мутаций мыши способны вырабатывать устойчивость к подобным поражениям мозга. И, что интересно, у мышей, в мозгу которых развивались мальформации, также образовывались и абсцессы в брюшной области. Они появлялись после инъекций, которые в ходе исследования получали все мыши.

Дальнейший анализ показал, что при введении эндотоксинов бактерий Bacteroides fragilis, в большом количестве содержащихся в кишечнике, у мышей с мутациями мальформации развивались, а у обычных - нет. Грамотрицательные бактерии влияют на поведение клеток, и у генетически измененных мышей они вызывали разрастание клеток, выстилающих внутреннюю поверхность сосудов головного мозга.

Введение антибиотиков вызвало уменьшение количества бактерий на 96% - и настолько же снизилась частота возникновения сосудистых поражений.

Результаты работы были опубликованы в журнале Nature.

https://www.gazeta.ru