Клинические, генетические и метаболические особенности сахарного диабета у больных бурятской популяции

И.И. Дедов[1], Л.И. Колесникова[2], Т.П. Бардымова[3], С.А. Прокофьев[1], О.Н. Иванова[1]

[1] *Эндокринологический научный центр (дир. – акад. РАН и РАМН И.И. Дедов) РАМН, Москва*
[2] *ГУ научный центр медицинской экологии (дир. – член-корр. РАМН Л.И. Колесникова) ВСНЦ СО РАМН, Иркутск*
[3] *ГОУ ДПО Иркутский институт усовершенствования врачей (ректор – член-корр. РАМН А.А. Дзизинский)*

Сахарный диабет 1 типа (СД1) вследствие ранней инвалидизации, снижения качества жизни больных молодого трудоспособного возраста, а также в связи с высокими экономическими затратами, связанными с заболеванием, является одной из важнейших медико-социальных проблем во многих странах. В разных географических зонах распространенность СД 1 неодинакова, заболеваемость имеет тенденцию к росту с юга на север, с востока на запад [1–3]. Пик заболеваемости СД 1 отмечается в Скандинавских странах и низкий уровень – в странах Востока [4,5].

Установление генетических маркеров предрасположенности к СД 1 и патогенетически значимых факторов имеет большое значение для выяснения генетически обусловленных механизмов развития заболевания и его осложнений. Особое внимание в настоящее время уделяется исследованиям, посвященным этническим особенностям в развитии и течении СД 1 [6].

Республика Бурятия расположена на юго-востоке России на границе с Монголией. Социально-экономический статус республики характеризуется развитием всех отраслей экономики, в том числе производственной, культурной и научно-технической сферами. По данным Всероссийской переписи населения 2002 г. в Бурятии проживает 981 238 человек, из них 665 512 человек – русских и 272 910 человек – бурят.

Целью настоящего исследования явилось изучение патогенетических механизмов и клинических особенностей СД 1 у больных бурятской популяции.

Материалы и методы исследования

Генетические исследования проведены у 76 больных СД 1 бурятской популяции в возрасте от 1 года до 40 лет. Контрольная группа состояла из 61 человека бурятской национальности без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ним. Для изучения перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния антиоксидантной системы (АОС) обследовано 65 больных СД 1, которые разделены на две группы: больных русской и бурятской популяций. В первую группу вошли 27 больных СД 1 русской популяции (мужчин – 12, женщин – 15), средний возраст – 32,7±2,3 года, длительность заболевания 12,87±1,97 лет. Вторую группу составили 38 больных СД 1 бурятской популяции (мужчин – 23, женщин – 15), средний возраст – 34,4±1,9 года, длительность заболевания 12,05±1,51 лет. Контрольная группа русской популяции состояла из 23 практически здоровых лиц, средний возраст 27,1±1,9 лет. Контрольная группа бурятской популяции состояла из 34 практически здоровых лиц, средний возраст 30,3±1,3 лет.

Типирование полиморфизма гена CTLA4 A49G проводилось с помощью метода PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism). Дизайн постановки PCR-RFLP разработан с помощью программы Primer Premier 5.0. Идентификацию продуктов амплификации проводили после электрофореза в 2% агарозном геле и окрашивания продуктов амплификации бромистым этидием. Полученные ампликоны инкубировали с 5 U рестриктазы Fsp4H1 в течение 2–4 ч, продукты рес-

трикции для определения генотипа разделяли электрофорезом в 2–3% агарозном геле [10].

Двойные связи (Дв. св.), диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряженные триены (КД и СТ) определяли с помощью метода, основанного на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 220 (Дв.св.), 232 (ДК), 278 (КД и СТ) нм. Для определения малонового диальдегида (МДА) в каждой пробе регистрировалась интенсивность флуоресценции при λвозб=515 нм и λисп=554 нм. Для расчета количества МДА использовали молярный коэффициент экстинкции. Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) проводили при λ=320 нм. Антиокислительную активность крови (АОА) выражали в относительных единицах как tg α. Содержание α–токоферола и ретинола определяли флуориметрическим методом. В качестве внешнего стандарта использовался D,L-α-tocopherol (Serva) и all trans-retinol (Sigma). Концентрацию определяли путем сравнения интенсивности флюоресцирующих проб и внешнего стандарта. Определение восстановленного глутатиона (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG) производили флуориметрическим методом, измерения проводились при λex=350 нм с пиком эмиссии при 420 нм.

Статистический анализ проведен с расчетом достоверности групповых различий по критериям Стьюдента, Фишера. При анализе использовали критерий Пирсона, дискриминантный и кластерный анализы при заданном уровне значимости (p). Разницу сравниваемых показателей считали достоверной при p<0,05. Использовалась программа «Statistica».

Результаты и их обсуждение

Нами рассчитаны показатели заболеваемости и распространенности СД 1 в бурятской популяции. Заболеваемость СД 1 в бурятской популяции составила 0,73 на 100 тыс. бурят. Показатель распространенности СД 1 в бурятской популяции составил 24,18 на 100 тыс. бурят. Согласно полученным сведениям, только 0,02% лиц бурятской популяции страдают СД 1. По данным Ю.И. Сунцова с соавт. (2002) показатели заболеваемости и распространенности СД1 в России составляют 13,3 и 224,5 на 100 тыс. взрослого населения [7].

У больных СД 1 и в контрольной группе бурятской популяции исследовали однонуклеотидный полиморфизм (SNP) гена *CTLA4* (49A/G). Это наиболее исследованный и охарактеризованный полиморфизм лежит в кодирующей области гена, ассоциирован с множеством аутоиммунных болезней, в том числе с СД 1 [8,9]. Определялись частоты аллелей и генотипов SNP 49A/G в двух группах бурят (больных СД 1 и в контрольной группе) с тем, чтобы методом case-control проверить наличие (или отсутствие) ассоциации этого SNP с риском возникновения СД 1 в бурятской популяции.

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей ПОЛ-АОС у больных СД 1 русской и бурятской популяций (M±m)

Показатель ПОЛ-АОС	Больные СД 1	
	русская популяция	бурятская популяция
ДК, мкмоль/л	1,19±0,12*** (n=26)	0,78±0,06 (n=37)
МДА, мкмоль/л	2,06±0,13 (n=26)	1,80±0,06 (n=37)
Дв.св., усл. ед.	3,09±0,29** (n=26)	2,13±0,14 (n=36)
КД и СТ, усл. ед.	0,66±0,14* (n=26)	0,36±0,05 (n=36)
ОЛ, г/л	7,63±0,52*** (n=26)	5,47±0,37 (n=35)
АОА, усл. ед.	15,42±0,97 (n=27)	22,18±1,09*** (n=37)
α-Токоферол, мкмоль/л	8,21±0,78** (n=27)	6,24±0,33 (n=38)
Ретинол, мкмоль/л	2,34±0,18 (n=27)	2,30±0,16 (n=38)
СОД, усл. ед.	1,57±0,24 (n=24)	1,27±0,04 (n=33)
GSH, мкмоль/л	2,51±0,13 (n=24)	2,80±0,12 (n=33)
GSSG, мкмоль/л	2,16±0,09 (n=24)	2,15±0,09 (n=33)

Примечание.
* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 при сравнении групп.

В группе больных СД 1 частота генотипа AG (51,4%) выше, чем в контрольной группе [8,10], однако результаты статистически недостоверны. На основании этих данных можно сделать вывод, что исследование SNP полиморфизма 49A/G гена *CTLA4* не позволило выявить ассоциацию с заболеваемостью СД 1 в бурятской популяции. Аллели 49AG гена *CTLA4* в бурятской популяции распределены примерно так же, как в японской и в китайской популяциях, в отличие от европейских популяций, в которых доминирует аллель 49G данного гена.

При сравнении свободнорадикальных процессов между группами больных СД 1 русской и бурятской популяций установлена достоверная разница в накоплении продуктов пероксидации. У больных СД 1 русской популяции в сравнении с больными бурятской популяции наблюдалось повышение ДК (p<0,001), Дв.св. (p<0,01), КД и СТ (p<0,05) (табл. 1).

Таблица 2

Сравнительная характеристика показателей ПОЛ-АОС в контрольной группе и у больных СД 1 русской популяции (M±m)

Показатель ПОЛ-АОС	Больные СД 1 русской популяции	Контрольная группа русской популяции
ДК, мкмоль/л	1,19±0,12*** (n=26)	0,52±0,08 (n=23)
МДА, мкмоль/л	2,06±0,13 (n=26)	1,94±0,11 (n=23)
Дв.св., усл. ед.	3,09±0,29*** (n=26)	1,51±0,18 (n=22)
КД и СТ, усл. ед.	0,66±0,14* (n=26)	0,25±0,07 (n=22)
ОЛ, г/л	7,63±0,52*** (n=26)	4,77±0,51 (n=19)
АОА, усл. ед.	15,42±0,97 (n=27)	17,69±1,37 (n=23)
α-Токоферол, мкмоль/л	8,21±0,78 (n=27)	6,73±0,31 (n=23)
Ретинол, мкмоль/л	2,34±0,18 (n=27)	2,39±0,14 (n=22)
СОД, усл. ед.	1,57±0,24 (n=24)	1,43±0,04 (n=22)
GSH, мкмоль/л	2,51±0,13 (n=24)	2,90±0,14* (n=22)
GSSG, мкмоль/л	2,16±0,09*** (n=24)	1,72±0,09 (n=22)

Примечание.
* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 при сравнении групп.

Таблица 3

Сравнительная характеристика показателей ПОЛ-АОС в контрольной группе и у больных СД 1 бурятской популяции (M±m)

Показатель ПОЛ-АОС	Больные СД 1 бурятской популяции	Контрольная группа бурятской популяции
ДК, мкмоль/л	0,78±0,06** (n=37)	0,58±0,05 (n=31)
МДА, мкмоль/л	1,73±0,12 (n=35)	1,58±0,11 (n=31)
Дв.св., усл. ед.	2,13±0,14** (n=36)	1,66±0,10 (n=31)
КД и СТ, усл. ед.	0,36±0,05 (n=36)	0,30±0,07 (n=31)
ОЛ, г/л	5,47±0,37 (n=35)	5,22±0,37 (n=27)
АОА, усл. ед.	22,18±1,09*** (n=37)	14,36±0,73 (n=31)
α-Токоферол, мкмоль/л	6,24±0,33 (n=38)	6,85±0,39 (n=31)
Ретинол, мкмоль/л	2,30±0,16 (n=38)	2,71±0,19 (n=31)
СОД, усл. ед.	1,27±0,04 (n=33)	1,41±0,04** (n=30)
GSH, мкмоль/л	2,80±0,13 (n=33)	2,79±0,16 (n=32)
GSSG, мкмоль/л	2,15±0,09 (n=33)	2,03±0,15 (n=32)

Примечание.
* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 при сравнении групп.

Инициация ПОЛ у больных СД 1 русской популяции наблюдалась на фоне достоверного повышения уровня холестерина (p<0,01), триглицеридов (p<0,01), ЛПОНП (p<0,01), индекса атерогенности (p<0,01) и общих липидов (p<0,001). Отсутствие атерогенной дислипидемии и активации ПОЛ у больных СД 1 бурятской популяции замедляет процессы формирования поздних сосудистых осложнений. Генетические особенности и традиционный стереотип питания бурят с преобладанием жиров животного происхождения, возможно, способствуют формированию устойчивости к развитию атеросклеротических процессов.

Сравнительный анализ показателей ПОЛ у больных диабетом русской и бурятской популяций с соответствующими контрольными группами русских и бурят показал, что в группах больных диабетом свободнорадикальные процессы усилены, но степень их выраженности разная. У больных русской популяции относительно контрольной группы русских установлено накопление ДК (p<0,001), Дв. св. (p<0,001), КД и СТ (p<0,05) и ОЛ (p<0,001), а у больных бурятской популяции относительно контрольной группы бурят – накопление ДК (p<0,01) и Дв.св. (p<0,01) (табл. 2).

Накопление продуктов пероксидации сопровождалось активацией АОС. У больных СД 1 русской популяции наблюдалось повышение концентрации α-токоферола по сравнению с больными бурятской популяции (p<0,01), у которых, в свою очередь, была повышена АОА (p<0,001) (см. табл. 1). Обращает внимание, что у больных бурятской популяции рост АОА наблюдался изолированно, т. е. без активации ПОЛ по сравнению с русскими. Возможно, такое «досрочное» повышение АОА у больных СД 1 бурятской популяции способствует развитию устойчивости к отрицательному воздействию оксидативного стресса и может рассматриваться как защитная реакция, обеспечивающая более благоприятное течение заболевания.

У больных СД 1 русской популяции по сравнению с контрольной группой русских изменения концентраций форм глутатиона имели разнонаправленный характер: GSSG (p<0,001), GSH (p<0,05) (см. табл. 2). У больных СД 1 бурятской популяции в сравнении с контрольной группой бурят в механизмах антиоксидантной

защиты принимали участие как ферментативные, так и неферментативные звенья. Активность СОД у больных диабетом бурят была ниже ($p<0,01$), а АОА выше ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой бурят (табл. 3). Снижение супероксиддисмутазной активности и повышение АОА у больных бурятской популяции, скорее всего, связаны с процессами цепного окисления липидов.

Следовательно, процессы ПОЛ менее выражены у больных СД 1 бурятской популяции по сравнению с больными русской популяции на фоне активации ферментативных и неферментативных звеньев антиоксидантной защиты.

Выводы

1. Распространенность и заболеваемость СД 1 в бурятской популяции ниже российских показателей распространенности и заболеваемости, соответственно составляют 24,18 и 0,73 на 100 тыс. населения. У больных СД 1 бурятской популяции не установлена дислипопротеинемия (повышение холестерина, триглицеридов, ЛПОНП и индекса атерогенности).

2. ПОЛ у больных СД 1 бурятской популяции характеризуется гиполипопероксидацией по сравнению с больными русской популяции, накоплением ДК и Дв.св. относительно контрольной группы бурят. Состояние АОС у больных СД 1 бурятской популяции характеризуется повышением АОА по сравнению с больными русской популяции и разнонаправленными изменениями СОД и АОА по сравнению с контрольной группой бурят.

3. Исследование полиморфизма 49A/G гена *CTLA4* не выявило ассоциацию с заболеваемостью СД 1 в бурятской популяции.

Литература

1. Дедов И.И. Сахарный диабет / И.И. Дедов, М.В. Шестакова. – М.: «Универсум паблишинг», 2003. - 456с.
2. Науменко С.Л. Эпидемиологическая характеристика сахарного диабета 1 типа у детей и подростков Калининградского региона / С.Л. Науменко, Т.Л. Кураева // Сахарный диабет. – 2004 – №3 – С.8 - 13.
3. Zimmet P. Challendes in diabetes epidemiology – from West to the East / P. Zimmet // Diabetes Care. – 1992. – Vol.15. – P.232 - 252.
4. Сахарный диабет у детей и подростков / И.И. Дедов, Т.Л. Кураева, В.А. Петеркова, Л.Н. Щербачева - М.: «Универсум паблишинг», 2002. - 392с.
5. Williams G. Handbook of diabetes / G. Williams, J.C. Pickup. - UK.: Blackwell Science, 2003 - 242p.
6. Зилов А.В. Гены главного комплекса гистосовместимости в прогнозировании риска в развитии инсулинзависимого сахарного диабета: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.03 / ММА им. И.М. Сеченова. - М., 1998. – 24с.
7. Сунцов Ю.И. Значение государственного регистра больных сахарным диабетом в развитии диабетологической службы / Ю.И. Сунцов, С.В. Кудрякова, Л.Л. Болотская // Сахарный диабет. – 2002. – №1. – С.28 – 31.
8. Nistico L., Buzzetti R., Pritchard L. et al. The CTLA4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type1 diabetes.// Hum. Mol. Genet.- 1996-Vol. 5.-P.1975-80.
9. Marron M., Raffel L., Garchon H. et al. Insulin-depended diabetes mellitus (IDDM) is associated with CTLA4 polymorphisms in multiple ethnic groups.// Hum. Mol. Genet.- 1997-Vol. 6.-P.1275-1282.
10. Полиморфизм генов HLA класса II и CTLA 4 здоровых бурят и больных сахарным диабетом 1 типа в Бурятской республике /И.И. Дедов, Л.И. Колесникова, О.Н. Иванова, Т.П. Бардымова, Н.Г. Карлова, Т.М. Атаманова, С.А. Прокофьев // Сахарный диабет.- 2006.- №1.- С.2-8.