

Генетические аспекты сахарного диабета

М.И. Балаболкин, И.И. Дедов

Эндокринологический научный центр
(дир. — акад. РАМН И.И.Дедов) РАМН, Москва

В соответствии с современной классификацией сахарный диабет (СД) разделяют на диабет 1 и 2 типа, которые имеют многочисленные клинические, иммунологические и генетические различия. Предрасположенность к СД опосредуется несколькими генами. Помимо генетических факторов в генезе диабета участвуют внешнесредовые факторы и поэтому справедливо эту патологию относят к мультифакториальным заболеваниям.

Сахарный диабет 1 типа. Исследования по типированию генома человека с использованием панели высокополиморфных динуклеотидных микросателлитных маркеров более или менее равномерно расположенных по всей геномной ДНК выявило наличие на различных хромосомах многочисленных локусов, участвующих в наследственной передаче предрасположенности к СД1, главным из которых является локус IDDM1. Этот локус локализуется на хромосоме 6p21.31 и занимает область до 20 сантиморганид, локус отождествляется с генами главного комплекса гистосовместимости II класса или генами системы HLA II класса.

Значимость локуса IDDM1 в наследовании СД1 подробно рассмотрена в недавно опубликованной работе (Чистяков Д.А. и Дедов И.И., 1999). Проведенные многочисленные исследования в нашей стране и за рубежом позволили установить, что предрасположенность с высокой степенью риска к развитию СД1 сочетается с гаплотипами DR3 (DRB1*0301-DQA1*0501-DQB*0201) и DR4 (DRB1*0401,02,05-DQA1*0301-DQB1*0302). Предрасположенность умеренной степени риска сочетается с гаплотипами HLA: DR1 (DRB1*01-DQA1*0101-DQB1*0501); DR8 (DR1*0801-DQA1*0401-DQB1*0402); DR9 (DRB1*0902-DQA1*0301-DQB1*0303); DR10 (DRB2*0101-DQA1*0301-DQB1*0501). Протективное действие высокой степени к развитию СД1 сочетается с гаплотипами DR2 (DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1*0602) и DR5 (DRB1*1101-DQA1*0102-DQB1*0301), а умеренной степени - DR4 (DRB1*0401-DQA1*0301-DQB1*0301); DR4 (DRB1*0403-DQA1*0301-DQB1*0302) и DR7 (DRB1*0701-DQA1*0201-DQB1*0201).

Однако, как подчеркивают Е. Kawasaki и соавт., расшифровка механизма наследования предрасполо-

женности к СД 1 далека от полного установления и понимания взаимодействия всех его составляющих. Необходимо провести молекулярные моделирования по оценке диабетогенности различных аллелей генов HLA II класса. Это вызвано тем, что проведенные популяционные исследования дают неоднозначные результаты по ассоциации диабета с генами HLA, определяемыми у родителей, родственников I степени родства. Более того, некоторые гаплотипы генов HLA являются диабетогенными в одной популяции (семьи из Норвегии), индифферентными и даже протективными в других популяциях (семьи из Японии).

Следует подчеркнуть, что для развития заболевания необходимо наличие аллелей генов системы HLA, предрасполагающих к развитию диабета, но их присутствие у определенного индивида еще не является достаточным для развития болезни. Предрасположенность к СД 1 типа опосредуется не только определенными аллелями системы HLA, но обязательно сочетается со многими другими генами.

Как показали исследования J.Todd и соавт., идентифицировано еще 15 различных локусов, расположенных на хромосомах и участвующих в наследовании предрасположенности к СД 1. Два из этих локусов изучены детально: это указанный выше локус IDDM1, локализованный в геномной области HLA II класса на хромосоме 6p21.31 и имеющий наибольший вклад в генетическую предрасположенность к СД 1; далее следует локус IDDM2, локализованный на 5' конце гена инсулина, расположенного на 11 хромосоме (11p15.5). Этот локус полиморфен и состоит из повторов (VNTR), которые имеют два основных класса аллелей. Аллели III класса (длинные аллели) представляют собой 200 копий повторов и несут в основном протективную функцию (при их наличии риск развития диабета снижен на 70%), тогда как аллель I класса (короткие аллели, повторы от 23 до 63) имеет 30-40 копий повторов и опосредует предрасположенность к диабету рецессивного типа. Недавними исследованиями показано, что указанные аллели оказывают специфическое влияние на наличие высокого риска к развитию СД в различных популяциях, включая японскую. Не все повторы равнозначно указывают (или связаны) на предрасположенность к диабету. Так, аллель 42 повтора или аллель

814 может иметь протективную роль (Т. Amata и соавт., 1997; S.T. Bennett и соавт.). Изучая локус IDDM2 в 71 семье басков, I. Urrutia и соавт. идентифицировали 14 аллелей I класса и показали, что аллель 814 не вносит вклада в повышенную частоту предрасположенности к СД I. VNTR могут влиять на экспрессию гена проинсулина в вилочковой железе. При наличии аллелей III класса имеется низкая экспрессия проинсулина в поджелудочной железе, тогда как в вилочковой железе при этом отмечается высокий уровень экспрессии проинсулина (А. Pugliese и соавт.). На основании этих данных сделано предположение, что пептиды проинсулина/инсулина могут выступать в роли аутоантигенов, комплексируясь в тимусе с иммунокомпетентными клетками системы гистосовместимости (аналог системы HLA), приводя к толерантности проинсулин-реактивных Т-клеток. Изучая комплексообразование различных антигенов островков поджелудочной железы [(про)инсулин, ГАД₆₅ и ГАД₆₉] с генами HLA DR, А. Geluk и соавт. (1998) показали, что имеется четкая корреляция между антигенностью и аффинностью HLA-DR к комплексообразованию с ГАД₆₅ при СД I. Более того, отрицательная селекционная способность тимуса к инсулину сочетается с экспрессией HLA DR2, чем, видимо, и объясняется низкая аутореактивность к инсулину у таких лиц. Проинсулин, таким образом, может выступать в роли первичного антигена при СД I. Следствием такого взаимодействия является наличие проинсулин-реактивных Т-клеток, которые являются высоким фактором риска при I степени родства, а также отсутствие инсулита и диабета у NOD трансгенных мышей для проинсулина.

Детально изучен также локус IDDM3, локализованный у мышей на 3 хромосоме, а у человека на хромосоме 15q26, где в непосредственной близости расположен ген интерлейкина (IL-2). Установлено, что у NOD-мышей секреция IL-2 значительно снижена, по сравнению с мышами, резистентными к развитию диабета. Такое различие связано с наличием полиморфизма первого экзона гена IL-2. В этом участке у NOD-мышей выявляется замещение аминокислоты пролина и наличие вставки - серин-серин-пролин-треонин ("insertion"-SSPT), которые обеспечивают образование следующей последовательности - пролин-глутаминовая кислота-серин-треонин (PEST), что, как считают Р. Denny и соавт. у NOD-мышей дестабилизирует соответствующий белок, приводя к нарушению ауто толерантности и к инициации аутоиммунного ответа. Показано, что у больных СД I отмечается снижение уровня IL-2 в крови. Это позволяет считать, что нормальная секреция IL-2 является своеобразной "защитой" и "профилактическим фактором" от возможного иницирования аутоиммунного процесса.

Локус предрасположенности к СД I - IDDM4 локализуется на хромосоме 11q13; локус IDDM5 - на хромосоме 6q25; локус IDDM6 - на хромосоме 18q; локус IDDM7 - на хромосоме 2q31-q33; локус IDDM8 - на хромосоме 6q25-27; локус IDDM9 - на хромосоме 3q21-25; локус IDDM10 - на хромосоме 10p11.2; локус IDDM11 - на хромосоме 14q24.3-q31; локус IDDM12 - на хромосоме 2q31; локус IDDM13 - на хромосоме 2q33; локус IDDM15 - на хромосоме 6q21 и так называемый локус DXS106 - на хромосоме Xq. Локусы генов, участвующих в предрасположенности к СД, локализируются на нескольких хромосомах, но две из них - 6-я (локусы IDDM1, IDDM5, IDDM8, IDDM15) и 2-я (IDDM7, IDDM12, IDDM13) представляют особый интерес, т.к. на них идентифицировано 7 из 15 генов, участвующих в предрасположенности к диабету. Но не все перечисленные гены имеют одинаковый вклад в семейную ассоциацию предрасположенности к диабету. Так, на локус IDDM1 (гены HLA) приходится всего лишь 32%, IDDM2 - 10%; IDDM4 - 2%; IDDM5 - 5%; IDDM6 - 4%; IDDM7 - 5%; IDDM8 - 13%; IDDM9 - 8%, IDDM10 - 14%; DXS106 - 7%. Вклад локусов IDDM3, IDDM11, IDDM12, IDDM13, IDDM15 пока не установлен. Таким образом, предрасположенность к СД I опосредуется значительной группой генов.

Несомненно, что значимость отдельных генов в предрасположенности к СД I не окончательная и по мере уточнения механизмов, участвующих в передаче семейной предрасположенности к СД I, будет происходить "переоценка" значимости каждого гена. Об этом свидетельствует, например, тот факт, что недавно J. Fu и соавт. (1998), изучая значимость локуса IDDM13, локализованного на хромосоме 2q33, в предрасположенности к сахарному диабету I типа в японской популяции, показали, что аллельные маркеры (D2S301, D2S143, D2S137), расположенные в той же области, имеют неодинаковую ассоциацию с локусом IDDM13. Оказалось, что локус IDDM13 находится в неравновесной связи с D2S137, но не с D2S301 или D2S143. У обследованных этими авторами больных частота аллелей HLA высокого риска была значительно ниже при наличии аллели D2S137, что позволило сделать предположение о том, что локус IDDM13 имеет значительный вклад в предрасположенность к диабету без участия генов локуса IDDM1, т.е. генов HLA. Тщательное повторное исследование 2-й хромосомы с помощью так называемого многоточечного анализа (L. Esposito и соавт.) у родственников 960 семей из 8 различных стран показало, что на коротком участке хромосомы 2q31-q35 помимо локусов IDDM7, IDDM12 и IDDM13 локализируются кандидаты генов NRAMPI, ген IA-2 и кластер гена II-1.

Таким образом, генетическая предрасположенность к СД 1 опосредуется несколькими группами генов. Остаются неполностью понятными механизмы, осуществляющие как экспрессию определенных генов, так и их взаимодействие в инициации и поддержании активности в течение длительного времени процессов, направленных на деструкцию β -клеток и прогрессивное развитие инсулиновой недостаточности.

Проведенные исследования подтверждают мультифакториальную этиологию СД и значительную роль внешних факторов в развитии диабета. Генетическая предрасположенность важна для развития нарушенной толерантности к глюкозе, тогда как в развитии СД ведущая роль принадлежит внешним факторам, которые на фоне генетической предрасположенности ответственны за развитие клинически явного диабета.

Сахарный диабет 2 типа - гетерогенное заболевание, которое характеризуется комплексом метаболических нарушений, но характерными признаками этого заболевания являются инсулиновая резистентность и различной степени выраженности недостаточность функции β -клеток. В настоящее время к СД 2 относят только те случаи диабета, в патогенезе которых участвуют несколько генов. СД, протекающий с клинической картиной диабета 2 типа, и который в предыдущих классификациях ВОЗ (1980, 1985) был включен в группу СД 2, но патогенез которого, как удалось установить в последние годы, обусловлен нарушением определенных генов (MODY и др. типы); в соответствии с новой классификацией (АДА, 1997; ВОЗ, 1998) эти гены выделены в отдельную группу и в настоящем сообщении рассматриваться не будут.

Молекулярные основы патогенеза СД 2 остаются не полностью выясненными. Наследование СД 2 является полигенным. Однако все еще нет единого мнения о том, какой из перечисленных факторов (инсулинорезистентность или дефект функции β -клеток) является первичным. Гипергликемия сама по себе может быть причиной как инсулинорезистентности, так и недостаточности функции β -клеток. Исследования, в том числе и популяционные, показывают, что инсулинорезистентность, вероятнее всего, является первичной. Так, S. Lillioja и соавт., в проспективных исследованиях у индейцев пима показали, что инсулинорезистентность у них выявляется задолго до развития нарушенной толерантности к глюкозе; распространенность СД в указанной популяции является наиболее высокой из всех обследованных этнических групп в мире. По данным К. М. Flegal и соавт., распространенность СД в США значительно различается среди этнических групп и составляет среди европеоидов 5%, сре-

ди африканцев-американцев - 10%, кубинцев - 16%, мексиканцев-американцев - 24%, пуэрториканцев - 26%, индейцев пима - 35%, а в возрастной группе 55-64 лет - даже до 70%. Эти данные несомненно свидетельствуют о значительном влиянии генетических факторов в наследовании СД 2 и указывают на полигенный характер такой предрасположенности.

Внешние или разрешающие факторы в патогенезе СД 2 также многочисленны и одними из таких факторов могут быть ожирение, особенно центральный или абдоминальный тип ожирения, а также возраст, гиподинамия, беременность и др. У больных, страдающих ожирением, похудание приводит к снижению исходной концентрации глюкозы и инсулина в ответ на прием пищи. Возврат больных к избыточному питанию вновь сопровождается гипергликемией и гиперинсулинемией натощак, а также ухудшением секреции инсулина в ответ на прием пищи. Гиперинсулинемия является одним из ранних признаков ожирения на самых ранних стадиях развития СД, когда еще изменения углеводного обмена отсутствуют. Как показали исследования H. Beck-Nielsen и L.C. Groop, гиперинсулинемия при предиабетическом состоянии представляет необходимую компенсаторную реакцию организма на метаболическую инсулиновую резистентность, которая является вторичной по отношению к переяданию и ожирению. В пользу этого свидетельствуют работы С. Chen и соавт., которые у инсулинорезистентных спонтанно гипертензивных крыс выявили повышенную экспрессию генов ГЛЮТ-2 и глюкокиназы, чем и объясняется нормальное содержание глюкозы в крови при наличии у этих животных гиперинсулинемии. Снижение функциональной активности β -клеток при наличии ожирения в течение длительного времени приводит к нарушениям углеводного обмена и развитию СД. Не исключается, что в механизмах этого нарушения участвуют и генетические факторы. Изучая секрецию и действие инсулина, а также скорость образования глюкозы печенью у идентичных близнецов дискордантных по СД 2, A. Vaag и соавт. показали, что недостаточность секреции инсулина развивается за несколько лет до развития гипергликемии у лиц, генетически предрасположенных к СД. Это свидетельствует в пользу того, что при наличии генетической предрасположенности к диабету и при наличии ожирения β -клетки не могут в течение длительного времени адекватно секретировать достаточное количество инсулина для компенсации инсулинорезистентности.

В последние годы получены новые данные и по патогенезу СД 2. Соотношение инсулинорезистентности и нарушения функции β -клеток в патогенезе СД 2 различно как в отдельных популяциях, так и у

конкретных больных одной популяции. Неясно, какой из двух перечисленных дефектов является первичным. Так, у индейцев племени пима инсулинорезистентность предшествует СД 2. У родственников I степени родства больных диабетом 2 типа в период, когда при обследовании имеется ещё нормальная толерантность к глюкозе, уже выявляется снижение чувствительности к инсулину в мышцах при наличии значительной гиперинсулинемии. В то же время у больных СД 2, имеющих нормальную или слегка сниженную массу тела на ранних стадиях заболевания, имеет место инсулинопения.

Причины инсулинорезистентности при СД 2 гетерогенны. В развитии инсулинорезистентности чётко прослеживаются два компонента: генетический (наследственный) и приобретенный. Родственники I степени родства с нарушенной и даже нормальной толерантностью к глюкозе имеют выраженную инсулинорезистентность по сравнению с лицами контрольной группы. У монозиготных близнецов с СД 2 инсулиновая резистентность также более выражена по сравнению с близнецами без диабета. Приобретенный компонент инсулинорезистентности проявляется уже в период манифестации диабета. Показано, что имеющаяся умеренная инсулинорезистентность у родственников I степени родства при сохранении нормальной толерантности к глюкозе значительно усугубляется при нарушении у них углеводного обмена. Аналогичные данные получены при проведении исследований у монозиготных близнецов.

Механизмы развития инсулиновой резистентности при СД 2 также гетерогенны. Клиническими и экспериментальными исследованиями установлено, что одной из причин инсулинорезистентности в более выраженной степени является глюкозотоксичность (длительная гипергликемия). Глюкозотоксичность способствует десенситизации β -клеток, что проявляется ухудшением их секреторной активности.

Некоторые аминокислоты, в частности, глютамин, значительно влияют на действие инсулина, модулируя поглощение глюкозы; в этих случаях десенситизация является следствием образования продуктов обмена гексозаминов (гексозаминовый шунт). Глютамин и фруктозо-6-фосфат-аминотрансфераза необходимы для конверсии фруктозо-6-фосфата в глюкозамин-6-фосфат и для нормального функционирования этого шунта. Свободные жирные кислоты оказывают ингибирующее влияние на окисление глюкозы (цикл Рэндала) и участвуют в поддержании и усилении инсулинорезистентности.

Причиной инсулинорезистентности может быть мутация гена инсулинового рецептора. По мнению S.I. Taylor и D.E. Moller, мутации инсулинового рецептора следует подразделять на 5 классов: 1) мутации, приводящие к снижению скорости биосинтеза рецептора; 2) мутации, ухудшающие внутриклеточный транспорт и посттрансляционный процессинг;

3) мутации, приводящие к дефектам связывания инсулина; 4) мутации, сопровождающиеся снижением рецепторной активности тирозинкиназы и 5) мутации ускоряющие деградацию инсулинового рецептора.

К I классу мутаций относятся "бесмысленные" мутации кодона 897, кодона 672 гена рецептора инсулина, сопровождающиеся значительным снижением уровня мРНК гена инсулинового рецептора. Выявлено более 30 точечных мутаций гена инсулинового рецептора, в том числе относящихся ко II классу и идентифицированных при различных формах диабета, включая СД 2, сопровождающихся инсулиновой резистентностью. Несколько мутантных рецепторов характеризуются дефектами посттрансляционной модификации. При этом такая мутация может сопровождаться: а) дефектом транспорта рецептора к клеточной поверхности, б) снижением аффинности рецептора или в) никак не отражаться на функциональной активности рецептора. Среди описанных мутаций III класса следует отметить 2 мутации инсулинового рецептора, сопровождающиеся снижением способности связывания рецептора с инсулином (снижение аффинности), и мутация, приводящая к повышению аффинности инсулинового рецептора. IV класс, представляют: а) мутации β -субъединицы рецептора, приводящие к снижению инсулинстимулированной рецепторной тирозинкиназы (делеция экзона 17-22, мутации кодона 1109, мутации юкстамембранного домена, мутации при которых резко снижается фосфорилирование IRS-1 или субстрата-1 инсулинрецепторной киназы и др.); б) мутации внеклеточного домена, также сопровождающиеся ингибированием тирозинкиназной активности; в) киназодефицитные мутации, сопровождающиеся снижением эндоцитоза инсулинрецепторного комплекса и нарушением обратной регуляции "down regulation"; г) киназодефицитные мутации, приводящие к инсулиновой резистентности; мутации глутамина⁶⁶⁰ (GLU⁶⁶⁰) относят к мутациям V класса, которые сопровождаются ускорением деградации инсулинового рецептора.

Получены дополнительные экспериментальные данные, позволяющие уточнить механизмы инсулинорезистентности.

Y. Terauchi и соавт. получили линию мышей с моделью СД 2, у которой отсутствует ген СИР-1, что сопровождается инсулинорезистентностью, и ген глюкокиназы, что проявляется снижением секреции инсулина. Такой двойной дефект приводит к развитию СД, который характеризуется базальной гиперинсулинемией и снижением секреции инсулина в ответ на нагрузку глюкозой. У животных с таким генотипом СИР-1 отмечаются гиперплазия β -клеток и признаки дифференцировки неэндокринных клеток в β -клетки. Эти изменения, отражают компенсаторную гиперинсулинемию, вызванную инсулиновой резистентностью, что в какой-то мере отражает имеющее место при СД 2 у человека взаимоотношение между инсулиновой резистентностью и гиперинсулинемией.

Интерпретируя эти результаты исследований, A.V. Jenkins и L.H. Storlien считают, что нарушение функции СИР-1 у животных приводит к блокаде трансдукции биологического сигнала инсулина, что в свою очередь является причиной гиперинсулинемии и гиперплазии β -клеток.

Как известно, сахароснижающее действие инсулина обусловлено активированием синтеза гликогена в печени и скелетных мышцах. Мышечная гликогенсинтаза является ключевым ферментом нео-

кислительного обмена глюкозы. Нарушение активности фермента сопровождается снижением биологической активности инсулина и инсулиновой резистентностью. Множественные дефекты в активности гликогенсинтазы приводят к снижению синтеза гликогена у больных СД 2 (A.W. Thorburn и соавт.). Наличие инсулинорезистентности может быть следствием мутации гена рецептора к инсулину, мутации гена гексокиназы 2 типа, гена СИР-1 и гена регуляторной субъединицы 1 типа протеинфосфатазы (Y. H. Chen и соавт.).

Гликогенсинтаза 1 типа у человека состоит из 737 аминокислотных остатков и наличие метионина в положении 416, идентифицированное у 4 видов млекопитающих, свидетельствует о важности этой аминокислоты в сохранении биологического действия фермента. M. Orho и соавт. выявили мутацию гена гликогенсинтазы (G464S), но ее локализация была дистальнее метионина. Другое исследование было проведено по анализу гена гликогенсинтазы у 244 больных СД 2 без ожирения и 181 лица контрольной группы в японской популяции. Проведенное H. Shimomura и соавт. изучение аминокислотной последовательности гена позволило идентифицировать 2 новых "бессмысленных" мутации: метионина на валин в 10 экзоне в положении 416 (M416V) и пролина на аланин в 11 экзоне в положении 442 (P442A). Мутация M416V часто выявляется в японской популяции (13,7% у больных СД 2 и у 9,7% у лиц контрольной группы); различие достоверно. Однако индекс чувствительности к инсулину был у больных диабетом 2 типа с мутацией гена гликогенсинтазы M416V достоверно ниже, чем у больных диабетом без указанной мутации. Это четко свидетельствует в пользу того, что мутация M416V в гене гликогенсинтазы является одной из причин инсулиновой резистентности при СД 2 в японской популяции.

Активация синтеза гликогена в скелетных мышцах в ответ на действие инсулина является результатом ингибирования активности киназы - 3 гликогенсинтазы и одновременным активированием протеинфосфатазы - 1, в результате чего изменяется соотношение между неактивным фосфорилированным состоянием гликогенсинтазы и активным дефосфорилированным состоянием. Киназа-3 гликогенсинтазы является важным регулятором синтеза гликогена в скелетных мышцах, которая у человека представлена изоформами этого белка: киназа-3 α и киназа-3 β гликогенсинтазы.

Ген киназы-3 α гликогенсинтазы локализуется на хромосоме 19q13.1-q13.2, а ген киназы-3 β гликогенсинтазы на хромосоме 3q13.3-q21 (L. Hansen и соавт.) и, естественно, мутация генов, контролирующих синтез киназы-3, будет сопровождаться инсулиновой резистентностью, гиперинсулинемией и нарушением синтеза гликогена. Наряду со снижением активности гликогенсинтазы при СД 2 выявляется нормальное содержание фермента и снижение экспрессии мРНК гликогенсинтазы в скелетных мышцах. В культуре мышечных клеток скелетных мышц больных СД 2 (R.R. Henry и соавт.) и в культуре первичных миобластов, взятых у инсулинорезистентных лиц, но без СД (B.D. Thompson и соавт.), выявляется снижение активности гликогенсинтазы.

Таким образом, инсулинорезистентность и связанная с ней компенсаторная гиперинсулинемия у

больных СД 2 может быть обусловлена снижением активности киназы 3 α - или 3 β -гликогенсинтазы, а также непосредственно гликогенсинтазы или протеинфосфатазы 1 типа.

Жировая ткань выполняет не только функцию депонирования энергии, но и является местом образования нескольких гормонов (лептин, простагландины), в том числе фактора, который ингибирует действие инсулина. Таким веществом является α -фактор некроза опухолей (α -ФНО), повышенная экспрессия гена которого имеет место при ожирении как в жировой ткани, так и в мышцах. Инсулинорезистентность сопровождается повышением экспрессии в жировой ткани мРНК α -ФНО. Нейтрализация α -ФНО приводит к улучшению действия инсулина в скелетных мышцах и жировой ткани, тогда как в печени этого эффекта не наблюдается.

Механизм влияния α -ФНО на инсулиновую резистентность опосредуется несколькими путями. С одной стороны, он ингибирует инсулинстимулированное фосфорилирование субстрата инсулинового рецептора-1 и инсулинового рецептора и, в частности, его β -субъединицы, что проявляется нарушением трансдукции гормонального сигнала и биологического действия инсулина. Кроме того, α -ФНО уменьшает экспрессию гена, ответственного за синтез ГЛЮТ-4, что сопровождается снижением соответствующей мРНК. Исследованиями *in vivo* и *in vitro* показано, что это влияние α -ФНО сопровождается снижением поглощения глюкозы в жировой ткани; этот эффект проявляется при дозах значительно меньших, которые требуются для угнетения экспрессии гена ГЛЮТ-4. Следует отметить, что α -ФНО "пониженно регулирует" экспрессию гена ГЛЮТ-4 в жировой ткани, тогда как экспрессия этого гена транспортера глюкозы в мышцах остается практически интактной, но несмотря на это у животных с ожирением отмечается повышение чувствительности к инсулину, что свидетельствует о том, что влияние α -ФНО на транспорт глюкозы опосредуется механизмами, расположенными проксимальнее сигнальных путей действия инсулина.

Лептин. В 1953 г. G.C. Kennedy высказал предположение, что жировая ткань представляет собой не только депо для сохранения энергетического материала, а является эндокринной железой, гормоны которой регулируют объем и вес (массу) тела. Это явилось основой для обобщения этих предположений в виде "липостатической" теории регуляции количества жировой ткани. Лишь через 40 лет исследования, проведенные с целью идентификации гормона, секретируемого в жировой ткани и принимавшего участие в регуляции аппетита и поддержания жировой массы, завершились работой группы сотрудников из лаборатории, руководимой J.M. Friedman, которые доказали наличие гена ожирения (*ob gene*), а продукт этого гена был назван лептином.

Ген лептина человека локализуется на 7q31.3 хромосоме и состоит из 3 экзонов и 2 интронов и кодируется 4,5 kb мРНК. Экспрессия гена лептина, как считалось до последнего времени, наблюдается исключительно в белой жировой ткани. мРНК лепти-

на содержит 167 аминокислот, включая сигнальный пептид, состоящий из 21 аминокислотного остатка. Секретирующийся в жировой ткани лептин поступает в кровообращение пульсирующим образом и наибольшее его содержание в крови наблюдается в ночное время.

Уровень лептина в сыворотке крови плода человека определяется начиная с 18-й недели беременности и значительно увеличивается после 34 нед беременности и положительно коррелирует с массой и индексом массы тела. У плодов женского пола уровень лептина в сыворотке крови значительно выше, чем у плодов мужского пола. Прием пищи сопровождается повышением секреции лептина, а при голодании его уровень в сыворотке крови и экспрессия гена лептина в жировой ткани снижаются.

Функция лептина, вероятно, заключается в своевременном сигнале в ЦНС о возможном риске голодания и смерти и своевременного включения при этом механизмов, препятствующих развитию состояний, угрожающих жизни. Любой вид голодания сопровождается снижением плодовитости, угнетением скорости основного обмена и секреции гормонов щитовидной железы, увеличением конверсии тироксина в реверсивный или обратный трийодтиронин, лишенный биологической активности, и умеренным активированием гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что обеспечивает выживание организма. В таких ситуациях наблюдается снижение секреции лептина, что свидетельствует об адаптивной роли лептина, т.е. при недостатке энергии его секреция уменьшается, а при переедании и ожирении - увеличивается.

Таким образом, функция лептина заключается в предупреждении развития ожирения в условиях избыточного поступления пищи в организм. Снижение секреции лептина при голодании является сигналом для повышения поглощения энергии. При избыточном поступлении пищи в организм повышается термогенез путем активирования образования энергии в буром жире, посредством индукции экспрессии генов, ответственных за синтез митохондриальных разобщающих белков 1, 2 и 3 типа.

Основная роль в термогенезе принадлежит бурой жировой ткани. Она не является "хранилищем" энергии, как "белая" жировая клетчатка, а представляет собой ткань, в которой происходит сгорание жира, что обусловлено разобщением окисления АДФ в АТФ. Скорость термогенеза поддерживает постоянно температуру тела, которое необходимо для поддержания метаболических процессов на нормальном уровне. В этом смысле бурый жир играет важную роль в контроле массы тела и ожирения. Ключевая роль в поддержании и регулировании скорости термогенеза в буром жире принадлежит митохондриальным разобщающим белкам 1, 2 и 3 типа.

Разобщающий белок 1 типа (РБ-1) является переносчиком протонов и при активировании вызывает разобщение дыхания от окислительного фосфорилирования и способствует превращению энергии в тепло. Экспрессия мРНК РБ-1 достоверно различается у худых и лиц с ожирением. Однако патофизиологическое значение РБ-1 в развитии ожирения пока не установлено. Белком-кандидатом, ответственным за термогенез и возможно за избыточную массу тела, является разобщающий белок 2 типа. Снижение экспрессии гена РБ-2 у лиц с ожирением может иметь зна-

чение в патогенезе ожирения и свидетельствовать о возможной мутации этого гена.

От уровня экспрессии гена РБ-2 и РБ-3, а также от возможной их мутации зависит степень избыточной массы тела, так как именно эти белки являются основными регуляторами "сжигателей" жира, от функциональной активности которых зависит скорость основного обмена и поддержание нормальных соотношений массы тела и жировых депо.

Экспрессия генов митохондриальных РБ регулируется механизмами, принимающими участие в контроле образования и расхода энергии: симпатическая нервная система, β_3 -адренорецепторы, тиреоидные гормоны, транс-ретиноевая кислота и др. Между экспрессией генов митохондриальных РБ и лептина имеются обратные взаимоотношения (транс-ретиноевая кислота положительно влияет на экспрессию митохондриального РБ 1 типа и отрицательно на экспрессию лептина), что подтверждает их роль в поддержании энергетического гомеостаза.

Таким образом, адаптационная роль лептина заключается в снижении приема пищи и увеличении образования тепла через активирование термогенеза в бурой жировой ткани, возможно и в других местах. Механизмы активирования термогенеза включают в первую очередь индукцию экспрессии генов, ответственных за разобщение окислительного фосфорилирования (митохондриальные РБ 1, 2 и 3 типа). Рецептор к лептину клонирован у крыс, мышей и человека; различают 5 изоформ (варианты сплайсинга про-мРНК рецептора) рецептора к лептину. Ген лептина у человека локализуется на хромосоме 1 и включает в себя 20 экзонов. Установлена аминокислотная последовательность рецептора.

Нарушение рецептора гена меланокортина -4 (МС-4) у мышей вызывает диабет взрослого типа, гиперинсулинемию и гипергликемию, т.е. развитие фенотипического синдрома, характерного для СД 2 у человека.

Если у человека генетические компоненты, участвующие в развитии ожирения пока не установлены, то у животных идентифицировано 5 "генов ожирения": ожирение типа "agouti", ob, fat, db и tub. Белок "agouti" является антагонистом рецептора меланотонинстимулирующего гормона в коже и МС-4 в гипоталамусе. Доминантные алели гена "agouti" у мышей вызывают изменение окраски волосяного покрова и плеотропный тип ожирения. Исследования на трансгенных животных с нарушением гена МС-4 или гена нейропептида Y позволили J.M. Friedman считать, что рецепторы меланокортина также опосредуют гипоталамические эффекты пищевого поведения и поддержания массы тела.

Ответ на снижение и увеличение массы тела осуществляется различными механизмами. Голодание и снижение веса триггируется уменьшением уровня лептина и опосредуется гипоталамическим NPY, а ожирение триггируется повышением уровня лептина и опосредуется через гипоталамический меланокортин рецепторный путь.

T. Goloda и соавт. секвенировали ген рецептора МС-4 у 40 больных ожирением и 10 лиц без ожирения и обнаружили в положении 103 у двух больных ожирением в гетерозиготных состояниях замещение

валина на изолейцин, что не сопровождалось изменением уровня инсулина и глюкозы в крови, а также отсутствовали различия в индексе массы тела и в толщине кожной складки.

Ещё один механизм инсулиновой резистентности при СД 2, вероятно, обусловлен мембранным гликопротеином. Идентифицированный гликопротеин 1 плазматической мембраны (РС 1) с молекулярной массой 115-135 kDa относится ко II классу трансмембранных белков, присутствующих в большинстве клеток организма. Ген РС-1 локализуется на хромосоме 6q22-q23. Белок РС-1 снижает тирозинкиназную активность рецептора к инсулину и этот эффект на угнетение фосфорилирования рецептора к инсулину не опосредуется гидролизом АТФ или образованием АДФ (А. Grure и соавт.). Содержание РС-1 повышено в мышечной и жировой ткани у инсулинорезистентных лиц при отсутствии у них ожирения и диабета (L. Frittitta и соавт.) и уровень РС-1 имеет обратную корреляцию с действием инсулина. Эти наблюдения, показавшие, что повышенная концентрация РС-1, выявленная у инсулинорезистентных лиц при отсутствии ожирения и диабета, свидетельствует в пользу возможной его первичной значимости в патогенезе инсулинорезистентности. Не исключено, что РС-1 является первичным фактором, вызывающим инсулинорезистентность. В механизме действия РС-1 допускаются 2 возможности: РС-1 может комплексоваться с рецептором к инсулину и тем самым ингибировать его функцию или опосредовать снижение биологической активности инсулина через его влияние на активность гликогенсинтазы.

Обязательным компонентом патогенеза СД 2 является нарушение функции β -клеток, которое развивается как результат совместного воздействия глюкозотоксичности, нарушения секреции инсулина и ее 1-й фазы; нарушения глицеро-фосфатного шунта (снижения активности митохондриальной глицерофосфат дегидрогеназы), нарушения пульсирующей секреции инсулина; снижения массы β -клеток. Нарушение гена, кодирующего IRS-1, гена, локализованного на 4q хромосоме и кодирующего синтез так называемого FABP-2 белка, связывающего жирные кислоты, также имеет место. Нельзя исключить, что в патогенезе СД 2 может участвовать ген, ответственный за синтез протеаз (прогормональная конвертаза 2 и 3 типа), которые осуществляют конверсию проинсулина в инсулин. Ген конвертазы 2 типа, участвующий в отделении С-пептида от А-цепи, локализуется на хромосоме 20p11.2 и, как сообщили Н. Yoshida и соавт., А1 аллель интрона 2 этого гена сочетается в японской популяции с СД 2.

Среди других причин, влияющих на нарушение функции β -клеток при СД 2, следует отметить нарушение гена, локализованного на хромосоме 4q26 и

кодирующего FABP-2 или 2-белок, связывающий жирные кислоты.

Изучая роль 2-го белка, связывающего жирные кислоты, в патогенезе СД у членов мексикано-американской семьи из Сан-Антонио, В.Д. Mitchell и соавт. установили наличие взаимосвязей между индексом массы тела, базальным содержанием С-пептида, уровнем инсулина натощак и через 2 ч после приема пищи и полиморфизмом гена FABP2, локализованного на хромосоме 4q28-q31. Локус гена FABP2 является своего рода детерминантным для развития инсулиновой резистентности, которая наблюдается у мексиканцев-американцев и индейцев племени пима. Имеются данные о том, что мутация гена гликогенсинтазы, точечные мутации гена β_3 -адренорецептора, точечные мутации 2 экзона гена рецептора к глюкагону вовлечены в патогенез нарушения функции β -клеток.

В последние годы особое внимание в патогенезе ожирения и СД 2 придается мутации гена β_3 -адренергического рецептора, посредством которого катехоламины оказывают влияние на липолиз висцерального жира и этим контролируют как липолиз, так и скорость основного обмена.

J. Walston и соавт. изучали локус этого гена у индейцев племени пима и идентифицировали "бессмысленную или пропущенную" мутацию, в результате чего аргинин в 64-м положении первой внутриклеточной петли рецептора была заменен на триптофан. Частота этой мутации у индейцев пима составляла 0,31; у мексиканцев-американцев - 0,13; у африканцев-американцев - 0,12 и европеоидов-американцев - 0,08. У индейцев гомозиготов по указанной мутации возраст манифестации диабета, как и скорость основного обмена, был значительно ниже, чем у гетерозиготных носителей этого гена.

Побочные мутации наблюдались и у лиц финской популяции (E. Widen и соавт.); у лиц, носителей этой мутации, без СД были достоверно выше отношение "талия-бедро", достоверно повышен уровень инсулина после нагрузки глюкозой, выше диастолическое артериальное давление и более выраженная резистентность к инсулину по сравнению с лицами, не имеющими мутации гена β_3 -адренорецептора. Таким образом, мутация β_3 -адренорецептора сочетается с инсулинорезистентностью, гипертензией и ожирением, которые почти постоянны при СД 2.

Большое значение в предрасположенности к наследованию сахарного диабета 2 типа уделяется 11-й хромосоме, на которой локализуется ген аполипопротеина С₃, Апо -А1, Апо-А4, гликогенфосфоорилазы мышц, рецептора сульфанилмочевины, атаксии телеангиэктазии. Как установили S.C. Elbein и соавт. у лиц кавказоидной популяции северной Европы два локуса 11 хромосомы D11S901и D11S935, вероятно, являются локусами, участвующими в наследовании предрасположенности к диабету. Генами-кандидатами для СД 2 являются более 20 генов, наиболее важными из которых (J. Rumberger и соавт.) являются: ген лептина и его рецептора, АМФ киназоактивированной протеинкиназы, гексокиназы II, пируваткар-

боксилазы, глютамин-фруктозо-6-фосфат аминотрансферазы, адренорецептора α -2a, α -2b, α -2c, β 3, печеночной митохондриальной карнитин пальмитилтрансферазы I, gas сочетающейся с диабетом (RAD), панкреатического полипептида Y, рецептора NPY, фенилэтанолламин-N-метилтрансферазы, АТФ-цитрат-лиазы, киназы-4-пируватдегидрогеназы, регенерирующего белка островка, глюкозо-6-фосфатазы, так называемый "агоути включающий белок", а также ген инсулина, ген рецептора инсулина, ген IRS-1 и IRS-2, ген глюкокиназы, гены печеночного ядерного фактора и митохондриальной ДНК. Естественно предполагать, что ген, ответственный за синтез гликогенсинтазы, может участвовать в наследовании предрасположенности к СД 2. Исследования V. Gambino и соавт. по изучению полиморфизма генов 12-й хромосомы (ген амилина, ген печеночной гликогенсинтазы) показали, что указанные гены не вовлечены в наследование предрасположенности к СД 2.

Субстрат инсулинового рецептора (СИР, или IRS), представляющий собой семейство белков (СИР 1-4 или IRS 1-4), являются "причаливающими" цитоплазматическими протеинами, играющими ключевую роль в трансдукции гормонального сигнала во внутрь клетки.

Структура СИР включает несколько тирозинфосфорилируемых участков, на которых под влиянием инсулина, ИФР-1, некоторых цитокинов происходит фосфорилирование тирозина - это обязательный начальный этап передачи биологического действия указанных гормонов. Различные СИР имеют свои специфические функции. Наиболее хорошо охарактеризованы СИР-1 и СИР-2. Показано, что СИР-1 - дефицитные мышцы, несмотря на нормальное содержание СИР-2, уже при рождении имеют на 50-60% задержку роста и нарушения углеводного обмена, обусловленные резистентностью к инсулину и ИФР-1 (E. Agaki и соавт.).

Ген СИР-1 у человека локализуется на хромосоме 2q35-q36.1 (M.Stoffel и соавт.) и представлен как в инсулинчувствительных, так и в тканях-мишенях, чувствительных к ИФР-1, и является одним из генов-кандидатов, участвующих в предрасположенности к СД 2. K. Almind и соавт., изучая полиморфизм гена СИР-1 при СД 2 в датской популяции, идентифицировали замещение аминокислот в кодоне 972 (аргинин на глицин) и в кодоне 513 (аланин на пролин), которые достоверно чаще выявлялись у больных диабетом, чем в контрольной группе. Однако больные с выявленным полиморфизмом СИР-1 по степени выраженности резистентности к инсулину не отличались от больных диабетом, у которых отсутствовали изменения в гене СИР-1. Однако гете-

розиготы с полиморфизмом в кодоне 972 имели достоверно ниже базальное содержание ИРИ и С-пептида, что позволило считать возможную роль указанного локуса в наследовании предрасположенности к СД 2.

Нарушение гена СИР-2 является причиной развития СД у экспериментальных мышей (D.J. Withers и соавт., 1998) при наличии у них выраженной инсулиновой резистентности в скелетных мышцах и печени, что сочетается с гипoinsулинемией и недостаточностью β -клеток (B.E. Lavan и соавт.). Ген СИР-2 локализуется на хромосоме 13q34 и, по данным D. Bernal и соавт., не содержит полиморфных микросателлитов, которые можно было бы использовать как маркеры при проведении молекулярно-генетического анализа.

K.Kalidas и соавт. изучали возможную взаимосвязь мутаций гена СИР-2 с наличием СД 2 в семьях евреев Ашкенази. Тщательному исследованию была подвергнута область около гена СИР-2 и, в частности, три микросателлитных маркера: D13S286; D13S1265 и D13S285. Проведя генотипирование у 200 родственников из 150 семей, в которых по меньшей мере один из двух родственников страдал диабетом, авторы предполагают, что вероятнее всего ген СИР-2 не участвует в механизмах наследования предрасположенности к СД 2. Кроме того, K. Almind и соавт. изучали полиморфизм гена СИР-4 у 83 больных СД 2 (также были проведены ассоциативные исследования у 324 больных диабетом 2 и 267 контрольных лиц с нормальной толерантностью к глюкозе) и показали, что у части больных (популяция кавказоиды-датчане) выявляются 5 полиморфных аминокислотных участков (кодон 34, 411, 584, 883 и 879). Инсулиночувствительный индекс у молодых здоровых лиц, носителей полиморфизма гена СИР-4, не отличался от такового у лиц носителей "дикого" или естественного гена СИР-4. Показано также, что ген СИР-4 локализуется на X хромосоме. Авторы считают, что аминокислотный полиморфизм СИР-4 у молодых здоровых людей не сочетается ни с СД 2, ни с инсулиновой резистентностью.

Таким образом, молекулярно-генетические исследования последних лет позволили установить роль определенных генов в наследовании предрасположенности к СД 1 и 2. Результаты таких исследований позволяют оптимистически рассматривать возможность установления генетических механизмов, контролирующих наследование СД и его осложнений.

Литература

- Чистяков Д А, Дедов И И. Сахарный диабет, 1999, 3(4), 52-56
- Almind K., Bjarbaek C., Vestergaard H et al., *Lancet*, 1993, 342, 828-832
- Almind K., Frederiksen S K, Ahlgren M G et al., *Diabetologia*, 1998, 41, 969-974
- Amata T, Kurihara S, Kikuchi Ch et al., *Diabetes*, 1997, 46, 1637-1642
- Araki E, Lipes M A, Patti M E et al, *Nature*, 1994, 372, 186-190
- Bennett S T, Wilson A J, Esposito L et al., *Nat Genet*, 1997, 17, 350-352
- Bernal D, Almind K, Yenush L et al., *Diabetes*, 1998, 47, 976-979
- Chen C, Hosokawa H, Bumbalo L M, Leahy J L. *J Clin Invest*, 1994, 94, 269-274
- Denny P, Lord C J, Hill N J. *Diabetes*, 1997, 46, 695-700
- Elbein S C, Bragg k l, Hoffman M D. *Diabetes*, 1996, 45, 1263-1268
- Esposito L, Hill N J, Pritchard L E et al. *Diabetes*, 1998, 47, 1797-1799
- Flegal K M, Ezzati T M, Harris M I et al. *Diabetes Care*, 1991, 14, 628-638
- Friedman J M. *Nature*, 1997, 385, 119-120
- Frittita L, Youngren J, Sbraccia P et al. *Diabetologia*, 1991, 40, 282-289
- Fu J, Ikegami H, Kawaguchi Y et al. *Diabetologia*, 1998, 41, 228-232
- Gambino V, Menzel S, Trabb J B. *Diabetes*, 1996, 45, 291-294
- Geluk A, VanMeijgaarden K E, Schloot N C et al. *Diabetes*, 1998, 47, 1594-1601
- Gologa T, Scott J, Aitman T J. *Diabetologia*, 1997, 40, 976-979
- Grupe A, alleman J, Goldfine I D, et al. *J Biol Chem*, 1995, 270, 22085-22088
- Hansen L, Arden K C, Rasmussen S B et al. *Diabetologia*, 1997, 40, 940-946
- Henry R R, Ciaraldi T P, Abrams-Carter L et al. *J Clin Invest*, 1996, 98, 1231-1236
- Jenkins A B, Storlien L N. *Diabetologia*, 1997, 40, 1113-1114
- Kalidas K, Wasson J, Glaser B et al. *Diabetologia*, 1998, 41, 1389-1391
- Kawasaki E, Noble J, Erlich H et al. *Diabetes*, 1998, 47, 1971-1973
- Lavan B E, Fantin V R, Chang E T et al. *J Biol Chem*, 1997, 272, 21403-21407
- Lillioja S, Mott D M, Sprsul M et al. *N Engl J Med*, 1993, 329, 1988-1922
- Mitchell B D, Kammerer C M, O'onnell P et al. *Diabetes*, 1995, 44, 1046-1053
- Orho M, Nikula-Ijas P, Schalin-Jantti C et al. *Diabetes*, 1995, 44, 1099-1105
- Pugliese A, Zeller M, Fernandez A et al., *Nature Genet*, 1997, 15, 293-297
- Rumberger J, Gottschalk W, Yarnall D et al. *Dibetologia*, 1998, 41, 366-367
- Shimomura H, Sanke T, Ueda K et al., *Diabetologia*, 1997, 40, 947-952
- Stoffel M, Espinosa R, Keller S R. *Diabetologia*, 1993, 36, 335-337
- Taylor S I, Moller D E. In: "Insulin resistance", Ed. D E Moller, Wiley, N Y, 1993, 83-123
- Terauchi Y, Iwamoto K, Tamemoto H et al. *J Clin Invest*, 1997, 99, 861-866
- Thompson B D, Pratley R, Ossowski V. *J Clin Invest*, 1996, 98, 2346-2350
- Thornburn AW, Gumbiner B, Bulacan F et al. *J Clin Invest*, 1991, 87, 489-495
- Todd J A, Farrall M. *Hum Mol Genet*, 1996, 5, 1443-1448
- Urrutia I, Calvo B, Bilbao J R et al. *Diabetologia*, 1998, 41, 1121-1123
- Vaag A, Henriksen J E, Madsbad S et al. *J Clin Invest*, 1995, 95, 690-697
- Widen E, Lehto M, Kanninen T et al., *New Engl J Med*, 1995, 333, 348-351
- Withers D J, Gutierrez J S, Towery H et al. *Nature*, 1998, 391, 900-904
- Yoshida H, Ohagi S, Sanke T et al. *Diabetes*, 1995, 44, 389-393