Ассоциации вариантов гена фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) и генов цитокинов (IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, TNFA) с сахарным диабетом 2 типа у женщин

Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Климонтов В.В., Королев М.А., Фазуллина О.Н., Лапсина С.А., Королева Е.А.

ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск
(директор – академик РАМН В.И. Коненков)

Цель. Изучить ассоциации комбинаций полиморфных участков генов фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) и генов цитокинов (IL1B, IL4, IL6, IL10 и TNFA) с сахарным диабетом 2 типа (СД2) у женщин.

Материалы и методы. В исследование включены 374 женщины европеоидного происхождения без нарушений углеводного обмена в возрасте от 23 до 68 лет и 212 пациенток с СД2 в возрасте от 28 до 69 лет. Исследованы комбинации вариантов генов VEGF A-2578C и C+936T, IL1B C-31T, IL4 C-590T, IL6 G-174C, IL10 A-592C и A-1082G, TNFA A-238G, A-308G и A-863C.

Результаты. Анализ полиморфных участков исследованных генов выявил 52 комбинированных генетических варианта, частота которых была различна в группах здоровых и больных СД2 ($p < 0,002$). В группе из 34 признаков, положительно ассоциированных с СД2, обнаружена высокая частота гомозиготных генотипов VEGF -2578CC и +936CC, IL4 - 590CC, IL6 - 174GG, IL10 - 592CC и -1082AA, TNFA -238GG, -308GG и -863CC. В составе 18 комбинированных генетических признаков, негативно ассоциированных с СД2, гомозиготные варианты VEGF и IL10 встречались в равном соотношении с гетерозиготными вариантами, в то время как среди генотипов IL1B, IL4 и IL6 преобладали гетерозиготные варианты.

Заключение. Комбинации вариантов генов VEGF A-2578C и C+936T с генотипами IL1B C-31T, IL4 C-590T, IL6 G-174C, IL10 A-592C и A-1082G, TNFA A-238G, A-308G и A-863C могут служить генетическими факторами риска развития СД2 у женщин европеоидного происхождения.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, полиморфизм генов, факторы роста, цитокины

Associations of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene and cytokine (IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, TNFA) genes combinations with type 2 diabetes mellitus in women

Konenkov V.I., Shevchenko A.V., Prokofev V.F., Klimontov V.V., Korolev M.A., Fazullina O.N., Lapsina S.A., Koroleva E.A.
Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

Aim. To study the association between vascular endothelial growth factor (VEGF) and cytokine (IL1B, IL4, IL6, IL10 and TNFA) gene polymorphism combinations with type 2 diabetes mellitus (T2DM) in women.

Materials and methods. 374 Caucasian women without carbohydrate metabolism disorders from 23 to 68 years of age and 212 women with T2DM from 28 to 69 years of age were included in the study. The combinations of polymorphism A-2578C, C+936T in VEGF gene with polymorphism in IL1B C-31T, IL4 C-590T, IL6 G-174C, IL10 A-592C and A-1082G, TNFA A-238G, A-308G and A-863C were studied.

Results. Analysis revealed 52 combined genetic variations with different rate of occurrence between diabetic and control groups ($p < 0,002$). Among variations positively associated with T2DM ($n=34$) high frequency of homozygote genotypes of VEGF -2578CC and +936CC, IL4 -590CC, IL6 -174GG, IL10 -592CC and -1082AA, TNFA -238GG, -308GG and -863CC, was observed. In 18 combined genetic variations that were negatively associated with T2DM, homozygous variant of VEGF and IL10 were equally distributed with heterozygous genotypes, while heterozygote IL1B, IL4 and IL6 genotypes were more prevalent.

Conclusion. Combination of VEGF gene polymorphisms A-2578C and C+936T with polymorphism in IL1B C-31T, IL4 C-590T, IL6 G-174C, IL10 A-592C and A-1082G, TNFA A-238G, A-308G and A-863C may be genetic risk factors for T2DM in Caucasian women.

Key words: diabetes mellitus type 2, gene polymorphism, growth factors, cytokines

Превзойдя прогнозы экспертов, число больных диабетом в мире в 2011 г. достигло 366 млн человек, что составило 8,3% всего взрослого населения планеты [1]. Прирост числа больных осуществляется главным образом за счет сахарного диабета

2 типа (СД2). По данным Российского государственного регистра сахарного диабета, распространенность СД2 среди взрослого населения с 2000 по 2009 гг. увеличилась на 45,5%; распространенность СД2 среди женщин в 2,5 раза выше, чем среди мужчин [2]. Хотя основной

причиной эпидемии являются изменения образа жизни и питания, в генезе СД2 обсуждается значение генетических детерминант, которые помогают объяснить различия в индивидуальной предрасположенности и большую гетерогенность патогенеза заболевания.

В проведенных в последнее десятилетие полногеномных исследованиях идентифицировано около 40 локусов генетической предрасположенности к СД2 в европейских и азиатских популяциях. Почти все выделенные локусы оказались связаны с функцией β -клеток и лишь единичные (в частности, *PPARG*, *FTO*, *KLF14*) показали связь с инсулинорезистентностью [3]. Обнаружены ассоциативные связи СД2 с однонуклеотидным полиморфизмом более ста генов [4, 5]. Существует большое количество гипотез, пытающихся объяснить связь между полиморфизмами генов и развитием СД2. Общим слабым местом этих гипотез является относительно невысокая частота встречаемости отдельных аллелей или генотипов в популяции пациентов с СД2. Идентифицированные к настоящему времени локусы объясняют лишь порядка 10% наследственной предрасположенности к СД2 [6]. Это расширяет возможную область исследования ассоциаций полиморфизмов генов, а также их комбинаций, с развитием заболевания.

В последние годы в патогенезе СД2 и его сосудистых осложнений обсуждается роль хронического воспаления [7] и нарушений ангиогенеза [8]. Известно, что регуляция воспалительных реакций и новообразования сосудов осуществляется факторами роста и цитокинами. Мощными ангиогенными и провоспалительными свойствами обладает фактор роста сосудистого эндотелия (*VEGF*). Ген *VEGF* расположен на бр21.3 хромосоме, в нем обнаружено несколько полиморфных участков; определена взаимосвязь между аллельными вариантами в позициях -634, +936, -1154 и -2578, уровнем экспрессии *VEGF* и концентрацией данного фактора в крови [9]. Установлена ассоциация полиморфизма гена *VEGF* с развитием диабетической ретинопатии [10]. Активную роль в регуляции воспаления и ангиогенеза играют интерлейкины-1, -4, -6, -10 (*IL-1*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*) и фактор некроза опухолей α (*TNF- α*). Перечисленные цитокины могут включаться в патогенез СД2, участвуя в развитии воспаления жировой ткани и в формировании инсулинорезистентности [11]. Аллельные варианты генов влияют на уровень экспрессии данных цитокинов и тем самым на течение иммуновоспалительных заболеваний [12]. Проведенные к настоящему времени исследования ассоциаций полиморфизмов генов отдельных цитокинов с резистентностью к инсулину и развитием СД2 дали довольно противоречивые результаты [5, 13–21]. С учетом этого, в данной работе проведен анализ ассоциаций комбинарованных генетических признаков, включающих генотипы *VEGF* и генотипы цитокинов, с СД2.

Целью исследования стало изучение ассоциации комбинаций полиморфных участков гена *VEGF* и генов цитокинов (*IL1B*, *IL4*, *IL6*, *IL10* и *TNFA*) с СД2 у женщин. Для исследования отобраны точки полиморфизма, ассоциированные с высокими или низкими уровнями

продукции и сывороточной концентрации кодируемых этими генами регуляторных макромолекул.

Материалы и методы

В исследование включена группа из 586 жителей России женского пола, считающих себя и своих родителей русскими, в том числе 374 женщины без нарушений углеводного обмена, в возрасте от 23 до 68 лет, и 212 пациенток с СД2 в возрасте от 28 до 69 лет. Диагноз СД устанавливался по критериям ВОЗ (1999 г.). У больных с верифицированным СД определялась гликемия натощак и после еды, а также уровень гликированного гемоглобина A_{1c} . При необходимости проводилось исследование С-пептида, антител к глутаматдекарбоксилазе и антиостровковых антител, для исключения латентного аутоиммунного диабета взрослых. В исследование не включались пациенты с эндокринопатиями, болезнями экзокринной части поджелудочной железы и другими факторами риска симптоматических форм СД.

Обследованные давали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом.

Исследован однонуклеотидный полиморфизм не-транслируемых регионов генов: *VEGFA-2578C* и *C+936T*, *IL1B C-31T*, *IL4 C-590T*, *IL6 G-174C*, *IL10 A-592C* и *A-1082G*, *TNFA A-238G*, *A-308G* и *A-863C*. Генотипирование осуществляли методом рестриктоного анализа продуктов амплификации. Участки промоторного региона генов амплифицировали с использованием пары специфичных праймеров, затем продукты амплификации подвергали гидролизу соответствующими эндонуклеазами рестрикции («СибЭнзим», Новосибирск). Электрофорез проводили в 2% агарозном геле [22, 23].

При статистическом анализе результатов использовали такие показатели, как частота встречаемости генов, генотипов и их комбинаций, специфичность (Sp – вероятность отрицательного результата генетического теста при отсутствии заболевания), отношение шансов (odds ratio – отношение шансов события в одной группе к шансам этого же события в другой группе), с расчетом 95% доверительного интервала (95% CI). Частоту аллелей генов цитокинов вычисляли методом прямого подсчета по формуле: $f=n/2N$, где n – количество раз встречаемости аллеля (у гомозигот он учитывался дважды), $2N$ – удвоенная численность обследованных. Частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций определяли как процентное отношение индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных в группе по формуле: $f=n/N$, где n – количество раз встречаемости генотипа (комбинации), N – численность обследованных. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга [24]. Достоверность различий частот распределения изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по критерию χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность

Таблица 1

Комбинации генотипов VEGF с генотипами цитокинов, ассоциированные с развитием СД2

Полиморфизмы	Комбинации генотипов	СД2			Контроль			OR	OR's 95%CI	P(tmF ₂)	Sp
		n	N	%	n	N	%				
VEGF2578:IL10-1082	CA-AA	51	209	24,40	13	129	10,08	2,88	1,50-5,54	0,0010	89,92
VEGF2578:IL10-1082	AA-AA	20	209	9,57	2	129	1,55	6,72	1,54-29,25	0,0028	98,45
VEGF2578:IL10-592	CA-AA	11	208	5,29	2	294	0,68	8,15	1,79-37,18	0,0025	99,32
VEGF-936:IL10-1082	CC-AA	67	212	31,60	20	124	16,13	2,40	1,37-4,20	0,0019	83,87
VEGF-936:IL10-592	CC-AA	19	210	9,05	4	253	1,58	6,19	2,07-18,50	0,0003	98,42
VEGF2578:VEGF-936:IL10-592	CA-CC-AA	11	208	5,29	1	252	0,40	14,02	1,79-109,48	0,0016	99,60
VEGF2578:TNF-863:IL10-592	AA-CA-CA	7	208	3,37	0	294	0,00	21,92	1,25-386,03	0,0020	100,00
VEGF2578:TNF-238:IL10-1082	CA-GG-AA	49	209	23,44	13	129	10,08	2,73	1,42-5,27	0,0022	89,92
VEGF2578:IL4-590:IL10-1082	CA-CC-AA	32	203	15,76	6	129	4,65	3,84	1,56-9,46	0,0022	95,35
VEGF2578:IL6-174:IL10-1082	AA-GC-AA	13	209	6,22	0	128	0,00	17,66	1,04-299,64	0,0024	100,00
VEGF-936:TNF-863:IL10-1082	CC-CA-AA	21	212	9,91	1	124	0,81	13,52	1,80-101,83	0,0005	99,19
VEGF-936:TNF-308:IL10-592	CC-GG-AA	16	210	7,62	4	253	1,58	5,13	1,69-15,60	0,0021	98,42
VEGF-936:TNF-238:IL10-592	CC-GG-AA	17	210	8,10	3	246	1,22	7,13	2,06-24,70	0,0004	98,78
VEGF-936:IL4-590:IL10-1082	CC-CC-AA	46	206	22,33	11	124	8,87	2,95	1,47-5,95	0,0015	91,13
VEGF-936:IL10-1082:IL10-592	CC-AA-AA	17	210	8,10	0	124	0,00	22,52	1,34-377,87	0,0004	100,00
VEGF2578:TNF-863:TNF-308:IL10-592	AA-CA-GG-CA	7	208	3,37	0	294	0,00	21,92	1,25-386,03	0,0020	100,00
VEGF2578:TNF-308:IL6-174:IL10-592	CA-GA-GG-CC	7	208	3,37	0	287	0,00	21,40	1,22-376,87	0,0022	100,00
VEGF2578:TNF-238:IL4-590:IL10-1082	CA-GG-CC-AA	32	203	15,76	6	129	4,65	3,84	1,56-9,46	0,0022	95,35
VEGF-936:TNF-863:TNF-308:IL10-1082	CC-CA-GG-AA	19	212	8,96	1	124	0,81	12,11	1,60-91,61	0,0014	99,19
VEGF-936:TNF-863:TNF-238:IL10-1082	CC-CA-GG-AA	19	212	8,96	1	124	0,81	12,11	1,60-91,61	0,0014	99,19
VEGF-936:TNF-863:IL4-590:IL10-1082	CC-CA-CC-AA	16	206	7,77	0	124	0,00	21,57	1,28-362,77	0,0008	100,00
VEGF-936:TNF-308:TNF-238:IL10-592	CC-GG-GG-AA	14	210	6,67	3	246	1,22	5,79	1,64-20,42	0,0024	98,78
VEGF-936:TNF-308:IL6-174:IL10-592	CC-GA-GG-CC	13	210	6,19	2	247	0,81	8,08	1,80-36,25	0,0013	99,19
VEGF-936:TNF-308:IL10-1082:IL10-592	CC-GG-AA-AA	14	210	6,67	0	124	0,00	18,37	1,09-310,79	0,0015	100,00
VEGF-936:TNF-238:IL4-590:IL10-1082	CC-GG-CC-AA	43	206	20,87	10	124	8,06	3,01	1,45-6,23	0,0019	91,94
VEGF-936:TNF-238:IL10-1082:IL10-592	CC-GG-AA-AA	15	210	7,14	0	124	0,00	19,74	1,17-332,92	0,0015	100,00
VEGF2578:VEGF-936:TNF-238:IL4-590:IL10-1082	CA-CC-GG-CC-AA	27	203	13,30	4	123	3,25	4,56	1,56-13,38	0,0029	96,75
VEGF2578:TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592	CA-GA-GG-GG-CC	7	208	3,37	0	275	0,00	20,51	1,16-361,18	0,0026	100,00
VEGF-936:TNF-863:TNF-308:IL6-174:IL10-592	CC-CC-GA-GG-CC	12	210	5,71	1	247	0,40	14,91	1,92-115,65	0,0009	99,60
VEGF-936:TNF-863:TNF-238:IL4-590:IL10-1082	CC-CA-GG-CC-AA	16	206	7,77	0	124	0,00	21,57	1,28-362,77	0,0008	100,00
VEGF-936:TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592	CC-GA-GG-GG-CC	13	210	6,19	2	240	0,83	7,85	1,75-35,22	0,0024	99,17
VEGF2578:TNF-308:TNF-238:IL4-590:IL6-174:IL10-592	CA-GA-GG-CC-GG-CC	6	202	2,97	0	275	0,00	18,23	1,02-325,44	0,0055	100,00
VEGF-936:TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL4-590:IL10-1082	CC-CA-GG-GG-CC-AA	15	206	7,28	0	124	0,00	20,15	1,20-339,90	0,0015	100,00
VEGF-936:TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592	CC-CC-GA-GG-GG-CC	12	210	5,71	1	240	0,42	14,48	1,87-112,37	0,0009	99,58

Таблица 2

Комбинации генотипов *VEGF* с генотипами цитокинов, ассоциированные с резистентностью к развитию СД2

Полиморфизмы	Комбинации генотипов	СД2			Контроль			OR	OR's 95%CI	P(tmF ₂)	Sp
		n	N	%	n	N	%				
<i>VEGF</i> 2578: <i>IL10</i> -1082	CA-AG	31	209	14,83	39	129	30,23	0,40	0,24–0,69	0,0009	85,17
<i>VEGF</i> 2578: <i>TNF</i> -238: <i>IL4</i> -590: <i>IL10</i> -592	CA-GG-CT-CC	12	202	5,94	41	282	14,54	0,37	0,19–0,73	0,0029	94,06
<i>VEGF</i> 2578: <i>IL1B</i> -31: <i>IL4</i> -590: <i>IL10</i> -1082	CC-TC-CT-AG	0	203	0,00	7	126	5,56	0,04	0,00–0,69	0,0011	100,00
<i>VEGF</i> -936: <i>IL1B</i> -31: <i>IL10</i> -1082: <i>IL10</i> -592	CT-TC-AG-CC	0	210	0,00	8	121	6,61	0,03	0,00–0,55	0,0003	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -308: <i>IL4</i> -590: <i>IL6</i> -174	CA-CT-GG-CC-GC	0	203	0,00	11	249	4,42	0,05	0,00–0,87	0,0014	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -308: <i>IL10</i> -1082: <i>IL10</i> -592	CA-CT-GG-AG-CC	1	208	0,48	8	123	6,50	0,07	0,01–0,56	0,0019	99,52
<i>VEGF</i> 2578: <i>VEGF</i> -936: <i>IL1B</i> -31: <i>IL4</i> -590: <i>IL10</i> -1082	CC-CC-TC-CT-AG	0	203	0,00	6	120	5,00	0,04	0,00–0,78	0,0024	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>VEGF</i> -936: <i>IL4</i> -590: <i>IL6</i> -174: <i>IL10</i> -592	CC-CC-CC-CC-CC	0	202	0,00	10	246	4,07	0,06	0,00–0,96	0,0026	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>TNF</i> -308: <i>IL1B</i> -31: <i>IL4</i> -590: <i>IL10</i> -1082	CC-GG-TC-CT-AG	0	203	0,00	6	126	4,76	0,05	0,00–0,82	0,0029	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>TNF</i> -238: <i>IL1B</i> -31: <i>IL4</i> -590: <i>IL10</i> -1082	CC-GG-TC-CT-AG	0	203	0,00	7	126	5,56	0,04	0,00–0,69	0,0011	100,00
<i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -863: <i>TNF</i> -308: <i>IL6</i> -174: <i>IL10</i> -1082	CT-CC-GG-GC-AG	0	212	0,00	6	123	4,88	0,04	0,00–0,76	0,0023	100,00
<i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -308: <i>TNF</i> -238: <i>IL1B</i> -31: <i>IL4</i> -590	CC-GG-GG-TC-CT	4	206	1,94	20	244	8,20	0,22	0,07–0,66	0,0029	98,06
<i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -308: <i>IL1B</i> -31: <i>IL10</i> -1082: <i>IL10</i> -592	CT-GG-TC-AG-CC	0	210	0,00	8	121	6,61	0,03	0,00–0,55	0,0003	100,00
<i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -238: <i>IL1B</i> -31: <i>IL10</i> -1082: <i>IL10</i> -592	CT-GG-TC-AG-CC	0	210	0,00	8	121	6,61	0,03	0,00–0,55	0,0003	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -308: <i>TNF</i> -238: <i>IL4</i> -590: <i>IL6</i> -174	CA-CT-GG-GG-CC-GC	0	203	0,00	10	242	4,13	0,05	0,00–0,93	0,0024	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -238: <i>IL1B</i> -31: <i>IL4</i> -590: <i>IL10</i> -1082	CC-CC-GG-TC-CT-AG	0	203	0,00	6	120	5,00	0,04	0,00–0,78	0,0024	100,00
<i>VEGF</i> 2578: <i>TNF</i> -308: <i>TNF</i> -238: <i>IL1B</i> -31: <i>IL4</i> -590: <i>IL10</i> -1082	CC-GG-GG-TC-CT-AG	0	203	0,00	6	126	4,76	0,05	0,00–0,82	0,0029	100,00
<i>VEGF</i> -936: <i>TNF</i> -308: <i>TNF</i> -238: <i>IL1B</i> -31: <i>IL10</i> -1082: <i>IL10</i> -592	CT-GG-GG-TC-AG-CC	0	210	0,00	8	121	6,61	0,03	0,00–0,55	0,0003	100,00

В таблицах:

n – число носителей комбинаций генотипов; N – общее число обследованных; % – частота встречаемости комбинаций генотипов; OR – отношение шансов; OR's 95%CI – 95% доверительный интервал для OR; P(tmF₂) – значения P разности частот встречаемости комбинаций генотипов в группах сравнения по двустороннему варианту точного метода Фишера; Sp – специфичность в %.

и двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц [25].

Результаты и их обсуждение

Анализ распределения отдельных аллелей гена *VEGF* в точках полиморфизма *A*-2578*C* и *C*+936*T* в нашей выборке европеоидов России не выявил существенных различий в зависимости от наличия СД2. Характер распределения всех генотипов соответствовал распределению Харди-Вайнберга. Установлено лишь незначительное увеличение частоты встречаемости аллеля *A* с соответствующим снижением частоты аллеля *C* в точке полиморфизма -2578 среди пациентов с СД2 (OR=1,3, CI95%: 1,01–1,6, p=0,0485). Частоты генотипов достоверно не различались и при исследовании комбинаций

обоих полиморфизмов. Ранее сообщалось об отсутствии ассоциаций аллелей и генотипов *VEGF* с СД2 [26].

Гораздо более выраженные различия между группами здоровых и больных СД2 обнаружены при анализе распределения комбинированных генетических признаков, в состав которых входят генотипы одного или обоих полиморфизмов гена *VEGF*. Комплексный анализ частот встречаемости генотипов *VEGF* в точках полиморфизма *A*-2578*C* и *C*+936*T* в сочетании с вариантами генов *IL1B* *C*-31*T*, *IL4* *C*-590*T*, *IL6* *G*-174*C*, *IL10* *A*-592*C* и *A*-1082*G*, а также *TNFA* *G*-238*C*, *A*-308*G* и *A*-863*C*, выявил 579 комбинированных генетических признаков, частота которых оказалась различна в группах здоровых и больных СД2 с уровнем достоверности различий по двустороннему критерию Фишера p<0,05. В целях повышения информативности анализируемых признаков и приближения

расчетных популяционных показателей к результатам, которые могут использоваться в персонализированной медицине, далее был проведен анализ встречаемости комбинированных генетических признаков со значимостью различий $p < 0,002$ (табл. 1, 2). Данному уровню достоверности соответствовали 52 признака: частота 34 из них была повышена среди пациентов с СД2, частота 18 признаков, напротив, оказалась пониженной.

Среди всех позитивно ассоциированных с СД2 комбинированных генетических признаков обращает внимание высокая частота встречаемости гомозиготных вариантов генотипов *VEGF* в обеих точках полиморфизма (табл. 1). Их общая доля среди всех признаков, ассоциированных с СД2, составила 70,6%, тогда как среди здоровых лиц преобладали гетерозиготные варианты. Среди гомозиготных вариантов гена *VEGF* в большинстве случаев (83,3%) выявлены варианты *CC* в обеих точках полиморфизма, ассоциированные с повышенным уровнем продукции фактора [9].

Среди генов цитокинов, которые совместно с вариантами генов *VEGF* вошли в состав позитивно ассоциированных с СД2 комбинированных генетических признаков, обращает на себя внимание чрезвычайно высокая доля гомозиготных вариантов *AA* в точке *-1082* и *CC* в точке *-592* гена *IL10*. Эти варианты выявлялись в составе подавляющего большинства генетических комбинаций (94,1% случаев). Указанные генотипы ассоциированы с высоким уровнем продукции *IL-10* – цитокина с противовоспалительными и антиангиогенными свойствами. Таким образом, в генотипе женщин с СД2 одновременно присутствуют варианты генов, способствующие высокой продукции проангиогенного/провоспалительного и антиангиогенного/противовоспалительного фактора (*VEGF* и *IL-10*). Такие комбинации не характерны для регуляции воспаления и ангиогенеза в норме: у обследованных нами 374 женщин без СД2 они встречались крайне редко.

О наличии генетических особенностей регуляции ангиогенеза и воспалительного ответа у пациентов с СД2 свидетельствуют и результаты анализа полиморфизма генов других цитокинов. В составе ассоциированных с СД2 генетических комбинаций в позиции *-590* гена *IL4* выявлялся исключительно гомозиготный вариант *CC*. Данный вариант ассоциирован с низким уровнем продукции *IL-4* – противовоспалительного цитокина, обладающего выраженной способностью ингибировать ангиогенез [27]. В большей части генетических комбинаций обнаружены гомозиготные варианты *GG* или *CC* в полиморфных позициях регуляторных участков *A-238G*, *A-308G* и *A-863C* гена *TNFA*, которые ассоциируются с низким уровнем продукции фактора. Известно, что ангиотропное действие *TNF- α* обладает дозозависимым эффектом – в низких дозах проявляется проангиогенное влияние, в высоких дозах оно сменяется на антиангиогенное [28]. Практически во всех случаях в составе комбинаций у больных СД2 встречался гомозиготный вариант *GG* в позиции *-174* гена *IL6*, ассоциированный с высоким уровнем про-

дукции цитокина. Известно, что *IL-6* обладает выраженной провоспалительной активностью, а также способен стимулировать ангиогенез путем активации продукции *VEGF* [29]. Полученные данные согласуются с результатами других исследований, показавших ассоциацию аллели *G* в позиции *-174* гена *IL6* с развитием СД2 [13, 14].

В составе комбинированных генетических признаков, негативно ассоциированных с СД2, гомозиготные варианты гена *VEGF* встречались в равном соотношении с гетерозиготными генотипами (табл. 2). То же можно отнести к соотношению числа гомо- и гетерозиготных вариантов гена *IL10*. Среди генотипов *IL4* и *IL6* преобладали гетерозиготные варианты. Частота аллельных вариантов гена *TNFA* в составе комбинаций, позитивно и негативно ассоциированных с СД2, достоверно не различалась; в обеих группах преобладали варианты, связанные с низким уровнем продукции фактора. Существенным отличием группы генетических признаков, негативно ассоциированных с СД2, от группы позитивно ассоциированных признаков, оказалось наличие значительного числа гетерозиготных вариантов гена *IL1B* в позиции *-31 C/T*. Молекула *IL-1 β* , синтез которой кодируется этим геном, обладает выраженным провоспалительным и проангиогенным действием [30].

Представленные данные свидетельствуют о существенных различиях частот встречаемости комбинаций генотипов *VEGF* и других цитокинов, регулирующих интенсивность воспалительного ответа и ангиогенез, между больными СД2 и здоровыми женщинами. Выделенные комбинации в целом ряде случаев полностью отсутствуют у здоровых женщин и широко распространены среди женщин больных СД2. Высокая степень достоверности различий частот генетических комбинаций у больных и в контроле приближает их по информативности к так называемым «биологическим или генетическим маркерам» предрасположенности или резистентности к развитию СД2, что делает их использование перспективным в медицинской практике.

Заключение

Комбинации аллельных вариантов гена *VEGF* в точках полиморфизма *A-2578C* и *C+936T* с генотипами *IL1B C-31T*, *IL4 C-590T*, *IL6 G-174C*, *IL10 A-592C* и *A-1082G*, *TNFA A-238G*, *A-308G* и *A-863C* могут служить генетическими маркерами высокого и низкого риска развития СД2 у женщин европеоидного происхождения. В составе генетических комбинаций, ассоциированных с СД2, присутствует большое число гомозиготных вариантов генов цитокинов, влияющих на уровень экспрессии их продуктов и, тем самым, определяющих особенности течения воспалительных процессов и состояние ангиогенеза. Это свидетельствует о необходимости комплексного изучения роли семейства цитокинов и ростовых факторов с проангиогенной и провоспалительной активностью в патогенезе развития и характера течения СД2,

с акцентом на молекулярно-генетические механизмы контроля базового уровня продукции регуляторных факторов в организме каждого индивида. Такой подход позволяет использовать полученные индивидуальные ха-

рактеристики в обосновании персонализированных подходов в диабетологии.

Авторы декларируют отсутствие двойственности (конфликта) интересов, связанных с рукописью.

Список литературы

1. IDF Diabetes Atlas. Fifth edition. International Diabetes Federation. 2011.
2. Сунцов ЮИ, Болотская ЛЛ, Маслова ОВ, Казаков ИВ. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности в Российской Федерации. Сахарный диабет. 2011;(1):15–18.
3. Imamura M, Maeda S. Genetics of type 2 diabetes: the GWAS era and future perspectives [review]. Endocr J. 2011;58(9):723–739. Epub 2011 Jul 20.
4. The Pharmacogenomics Knowledge Base. Available from: <http://www.pharmgkb.org/index.jsp>.
5. Willer CJ, Bonnycastle LL, Conneely KN, Duren WL, Jackson AU, Scott LJ, Narisu N, Chines PS, Skol A, Stringham HM, Petrie J, Erdos MR, Swift AJ, Enloe ST, Sprau AG, Smith E, Tong M, Doheny KF, Pugh EW, Watanabe RM, Buchanan TA, Valle TT, Bergman RN, Tuomilehto J, Mohlke KL, Collins FS, Boehnke M. Screening of 134 single nucleotide polymorphisms (SNPs) previously associated with type 2 diabetes replicates association with 12 SNPs in nine genes. Diabetes. 2007 Jan;56(1):256–264.
6. Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V. MAGIC investigators; GIANT Consortium. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. Nat. Genet. 2010 Jul;42(7):579–589.
7. Garcia C, Feve B, Ferré P, Halimi S, Baizri H, Bordier L, Guio G, Dupuy O, Bauduceau B, Mayaudon H. Diabetes and inflammation: fundamental aspects and clinical implications. Diabetes Metab. 2010 Nov;36(5):327–338.
8. Fadini GP, Sartore S, Agostini C, Avogaro A. Significance of endothelial progenitor cells in subjects with diabetes. Diabetes Care. 2007 May;30(5):1305–1313.
9. Шевченко АВ, Голованова ОВ, Коненков ВИ, Бородин ЮИ, Любарский МС. Функциональный полиморфизм генов фактора роста сосудистого эндотелия VEGF. Лимфология. Новосибирск: Издательский дом «Манускрипт»; 2012. С. 280–303.
10. Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. Diabetes. 2009 Sep;58(9): 2137–2147.
11. Шварц В. Воспаление жировой ткани. Часть 2. Патогенетическая роль при сахарном диабете 2 типа. Пробл. эндокринолог. 2009;55(5):43–48.
12. Смольникова МВ, Коненков ВИ. Клиническая иммуногенетика заболеваний человека. Медицинская иммунология. 2001;3(3):379–388.
13. Ho KT, Shiao MY, Chang YH, Chen CM, Yang SC, Huang CN. Association of interleukin-4 promoter polymorphisms in Taiwanese patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism. 2010 Dec;59(12):1717–1722.
14. Illig T, Bongardt F, Schöpfer A, Müller-Scholze S, Rathmann W, Koenig W, Thorand B, Vollmert C, Holle R, Kolb H, Herder C. Kooperative Gesundheitsforschung im Raum Augsburg. Co-operative Research in the Region of Augsburg. Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C-174G and A-598G with type 2 diabetes. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004 Oct;89(10):5053–5058.
15. Huth C, Heid IM, Vollmert C, Gieger C, Grallert H, Wolford JK, Langer B, Thorand B, Klopp N, Hamid YH, Pedersen O, Hansen T, Lyssenko V, Groop L, Meisinger C, Döring A, Löwel H, Lieb W, Hengstenberg C, Rathmann W, Martin S, Stephens JW, Ireland H, Mather H, Miller GJ, Stringham HM, Boehnke M, Tuomilehto J, Boeing H, Möhlig M, Spranger J, Pfeiffer A, Wernstedt I, Niklason A, López-Bermejo A, Fernández-Real JM, Hanson RL, Gallart L, Vendrell J, Tsiavou A, Hatzigelaki E, Humphries SE, Wichmann HE, Herder C, Illig T. IL6 gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes: joint analysis of individual participants' data from 21 studies. Diabetes. 2006 Oct; 55(10):2915–2921.
16. Qi L, van Dam RM, Meigs JB, Manson JE, Hunter D, Hu FB. Genetic variation in IL6 gene and type 2 diabetes: tagging-SNP haplotype analysis in large-scale case-control study and meta-analysis. Hum. Mol. Genet. 2006;15 (11):1914–1920.
17. Scarpelli D, Cardellini M, Andreozzi F, Laratta E, Hribal ML, Marini MA, Tassi V, Lauro R, Perticone F, Sesti G. Variants of the interleukin-10 promoter gene are associated with obesity and insulin resistance but not type 2 diabetes in caucasian italian subjects. Diabetes. 2006 May;55(5):1529–1533.
18. Kubaszek A, Pihlajamäki J, Komarovski V, Lindi V, Lindström J, Eriksson J, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M, Laakso M. Finnish Diabetes Prevention Study. Promoter polymorphisms of the TNF-alpha (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the Finnish Diabetes Prevention Study. Diabetes. 2003 Jul;52(7):1872–1876.
19. Dalziel B, Gosby AK, Richman RM, Bryson JM, Caterson ID. Association of the TNF-alpha -308 G/A promoter polymorphism with insulin resistance in obesity. Obes. Res. 2002 May;10(5):401–407.
20. Zeggini E, Groves CJ, Parkinson JR, Halford S, Owen KR, Frayling TM, Walker M, Hitman GA, Levy JC, O'Rahilly S, Hattersley AT, McCarthy MI. Large-scale studies of the association between variation at the TNF/LTA locus and susceptibility to type 2 diabetes. Diabetologia. 2005 Oct;48(10):2013–2017.
21. Susa S, Daimon M, Sakabe J, Sato H, Oizumi T, Karasawa S, Wada K, Jimbu Y, Kameda W, Emi M, Muramatsu M, Kato T. A functional polymorphism of the TNF-alpha gene that is associated with type 2 DM. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2008 May 9;369(3):943–947.
22. Banyasz I, Szabo S, Bokodi G, Vannay A, Vasarhelyi B, Szabo A, Tulassay T, Rigo J. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe preeclampsia. Mol. Hum. Reprod. 2006 Apr;12(4):233–236.
23. Kim JK, Oh D, Kwak SY, Han JH, Chung YS, Kim NK. Genetic Polymorphism of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF C936T) in the Korean Population. Korean J. Biol. Sci. 2003;(7):261–264.
24. Вейр Б. Анализ генетических данных. Дискретные генетические признаки. Пер. с англ. М: Мир; 1995.
25. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М: Практика; 1998.

26. Freathy RM, Weedon MN, Shields B, Hitman GA, Walker M, McCarthy MI, Hattersley AT, Frayling TM. Functional variation in VEGF is not associated with type 2 diabetes in a United Kingdom Caucasian population. *JOP*. 2006 May;7(3):295–302.
27. Haas CS, Amin MA, Allen BB, Ruth JH, Haines GK, Woods JM, Koch AE. Inhibition of angiogenesis by interleukin-4 gene therapy in rat adjuvant-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006 Aug;54(8):2402–2414.
28. Sainson RC, Johnston DA, Chu HC, Holderfield MT, Nakatsu MN, Crampton SP, Davis J, Conn E, Hughes CC. TNF primes endothelial cells for angiogenic sprouting by inducing a tip cell phenotype. *Blood*. 2008 May 15; 111(10):4997–5007.
29. Huang S, Wu M, Shun C, Wang H, Lin M. Interleukin-6 increases vascular endothelial growth factor and angiogenesis in gastric carcinoma. *J. Biomed. Sci*. 2004 Jul–Aug;11(4):517–527.
30. Voronov E, Carmi Y, Apte RN. Role of IL-1-mediated inflammation in tumor angiogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2007;601:265–270.

Коненков Владимир Иосифович

д.м.н., академик РАН, руководитель лаборатории клинической иммуногенетики, директор, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Шевченко Алла Владимировна

к.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммуногенетики, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Прокофьев Виктор Федорович

к.м.н., в.н.с. лаборатории клинической иммуногенетики, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

E-mail: vprok@ngs.ru

Климонтов Вадим Валерьевич

д.м.н., в.н.с. лаборатории клинической иммуногенетики, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Королев Максим Александрович

к.м.н., зам. директора, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Фазулина Ольга Николаевна

врач-эндокринолог, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Лапсина Светлана Александровна

врач-эндокринолог, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Королева Елена Анатольевна

к.м.н., врач-эндокринолог, ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск