

Мутация С1167Т в гене каталазы и развитие нейропатии при сахарном диабете 1 типа

Е.В. Зотова, Д.А. Чистяков, И.И. Галеев*, И.А. Строков*, А.С. Аметов*, В.В. Носиков

Государственный научный центр РФ "ГосНИИ генетика"

(дир.-член-корр. РАН В.Г. Дебабов),

*Российская медицинская академия постдипломного образования

(дир. - член-корр. РАМН Л.К. Машетова), Москва

Диабетическая нейропатия (ДН) относится к поздним сосудистым осложнениям сахарного диабета (СД). Основным метаболическим нарушением, приводящим к развитию последних, является гипергликемия. Повышенные концентрации глюкозы вызывают резкое повышение содержания свободных кислородных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови, что приводит организм в состояние окислительного стресса.

При ДН происходит повреждение нервов, нарушается чувствительность периферических нервов, ухудшается скорость проведения нервного импульса и кровоснабжения нервной ткани вследствие уменьшения скорости кровотока и дисфункции сосудов. Окисление мембранных липидов нарушает структуру и целостность миелиновой оболочки нервов и вызывает миелопатию, а также приводит к увеличению содержания гидроксиперекисей и конъюгированных диенов и сопряжено с необратимыми изменениями в митохондриях нейронов (повреждение митохондриальной ДНК, дисфункция ферментов дыхательной цепи, накопление восстановленных соединений кислорода внутри митохондрий) [1].

Продукты ПОЛ, (2,5-гексадиен и другие конъюгированные диены) обладают нейротоксическим действием, вступая во взаимодействие с аминокислотными группами структурных белков, входящих в состав нервных филаментов, образуют пирролидиновые аддукты, которые склонны к аутоокислению и последующей димеризации, и ведут к образованию поперечных сшивок между белковыми молекулами [2].

Одним из факторов, способствующих развитию ДН, является нарушение внутриклеточного баланса Ca^{2+} [3].

Этому способствуют неферментативное гликозилирование белков, ишемия нервных волокон и окислительный стресс. Нарушение кальциевого гомеостаза выражается в угнетении функции Ca^{2+} -транслоказы, расположенной на плазматической мембране клеток, высвобождении внутриклеточного пула кальция из эндоплазматического ретикулума и усиления катаболических процессов, регулируемых ионами кальция [4-8].

Окислительный стресс влияет на содержание и активность ферментов антиоксидантной защиты в нервных клетках и сдвигает окислительно-восстано-

вительный баланс в нейронах в сторону накопления окисленных форм соединений [9].

Опыты на диабетических животных показали снижение в нервной ткани активности антиоксидантных ферментов (каталаза и глутатионпероксидаза) и накопление окисленного глутатиона - одного из важнейших акцепторов избытка свободных кислородных радикалов [10, 11].

Таким образом, гены антиоксидантных ферментов могут быть вовлечены в обеспечение предрасположенности к поражению нервов при СД.

Каталаза является одним из основных ферментов системы антиоксидантной защиты, осуществляющим разложение перекиси водорода (продукта супероксиддисмутазной реакции) на воду и свободный кислород. Ген каталазы (CAT) находится на хромосоме 11p13 [12]. В этом гене недавно обнаружена "молчащая" мутация (замена цитозина (C) на тимидин (T) в нуклеотиде 1167), не приводящая к изменению белковой последовательности [13].

Мы использовали данный полиморфный участок для оценки вклада гена CAT в предрасположенность к ДН при СД 1 типа в московской популяции.

Материалы и методы

Анализировали геномную ДНК 128 больных СД 1 типа с наличием (n=54, группа ДН+) и отсутствием (n=54, группа ДН-) нейропатии. В группу ДН+ вошли пациенты с длительностью диабета не более 10 лет и клиническим проявлением ДН, в контрольную группу (ДН-) - лица, болеющие диабетом свыше 10 лет без признаков нейропатии. (табл. 1).

Полиморфный участок гена CAT амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Продукты ПЦР разделяли с помощью рестриктазы NcoI и электрофоретически разделяли в 2%-ном агарозном геле, который затем окрашивали бромистым этидием. Условия ПЦР и рестрикции, а также последовательность праймеров для амплификации полиморфного участка описаны L. Folsberg и соавт. [13].

Частоту встречаемости аллелей и генотипов гена CAT в группах ДН+ и ДН- сравнивали с помощью точного критерия Фишера, считая достоверными различия при $p > 0,05$. Относительный

Таблица 1

Характеристика групп больных СД 1 типа с наличием (ДН+) и отсутствием (ДН-) нейропатии (М±m)

Показатель	Группа ДН+ (n=54)	Группа ДН- (n=74)
Пол, м/ж	27/27	26/48
Возраст, лет	23,6±12,7	26,0±11,5
Длительность диабета, лет	4,3±2,8	12,8±2,3

риск (RR) рассчитывали [14], рассматривая значения $RR > 1$ как фактор риска развития патологии, а $RR < 1$ как предохраняющий фактор.

Результаты и их обсуждение

В группе "ДН-" наблюдали существенное преобладание аллеля С, частота которого в 3,3 раза превышала долю аллеля Т (табл. 2). Как следствие, наиболее распространенным вариантом среди генотипов были гомозиготы СС (62,2%), содержание которых в 7,7 раза превосходило встречаемость гомозигот по аллелю Т, гетерозиготность составила 29,7%.

Таблица 2

Распределение аллелей (%) и генотипов (%) полиморфного маркера С1167Т гена САТ у больных СД 1 типа с наличием (ДН+) и отсутствием (ДН-) нейропатии

Генетический маркер	Группа ДН+ (n=54)	Группа ДН- (n=74)	p	RR
Аллель С	89,8	77,0	0,00566	2,55
Аллель Т	10,2	23,0	0,00566	0,39
Генотип СС	81,5	62,2	0,01414	2,60
Генотип СТ	16,7	29,7	0,07794	0,51
Генотип ТТ	1,9	8,1	0,12487	0,30

У больных ДН по сравнению с контрольной группой частота аллеля Т повышалась в 2,25 раза при уменьшении содержания другого аллеля ($p < 0,01$). У больных с ДН также было достоверно повышено содержание генотипа СС, в то время как доля остальных генотипов уменьшалась. Следует отметить, что снижение частоты гетерозигот СТ было довольно близко к достоверному ($p = 0,078$).

Таким образом, полиморфный маркер С1167Т гена САТ ассоциирован с развитием нейропатии

при СД 1 типа в московской популяции. Аллель С ($RR = 2,55$) и генотип СС ($RR = 2,60$) являются маркерами риска ДН, в то время как аллель Т ($RR = 0,39$) и гомозиготы ТТ ($RR = 0,30$), напротив, предохраняют от раннего развития ДН. Видимо, в популяции Москвы предрасполагающая роль генотипа СС выражена сильнее, чем предохраняющее действие гомозигот ТТ.

Поскольку известен целый ряд генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, было бы интересно исследовать и их на предмет возможной связи с СД. Это касается глутатионпероксидазы, кодируемой геном GPX1, и внеклеточной супероксиддисмутазы (ген SOD3). Получены данные о вовлеченности последней в развитие недиабетической (амилоидотической) полинейропатии типа I: мутация, приводящая к аминокислотной замене аргинина на глицин в кодоне 213 (Arg213Gly), вызывает диссоциацию фермента с сосудистой стенки, в результате чего его концентрация в плазме крови возрастает более чем в 10 раз, что является одной из основных причин развития окислительного стресса, сопровождающегося поражением широкого спектра сосудов у больных [15].

Литература

- Low P.A., Nickander K.K., Tritschler H.J. // *Diabetes*. - 1997. - Vol. 46. - Suppl. 2. - P. S38 - 42.
- Zhu M., Spink D.C., Yan B., Bank S., DeCaprio A.P. // *Chem. Res. Toxicol.* - 1994. - Vol. 7. - P. 551 - 558.
- Biessels G., Gispen W.H. // *Life Sci.* - 1996. - Vol. 9. - P. 379 - 387.
- Rosenberg S., Stracher A., Lucas R.C. // *J. Cell. Biol.* - 1991. - Vol. 91. - P. 201 - 211.
- Dayton W.R., Shollmayer J., Leprey R.A., Cortes L.R. // *Biochim. Biophys. Res. Commun.* - 1991. - Vol. 659. - P. 48 - 61.
- Mirabelli F., Salis A., Vairetti M. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1989. - Vol. 270. - P. 478 - 488.
- Van F.J.G.M., Sevanian A., Handleman G.J., Dratz E.A. // *Trends Biochem. Sci.* - 1987. - Vol. 12. - P. 31 - 34.
- Jones D.P., McConkey D.J., Nicotera P., Orrenius S. // *J. Biol. Chem.* - 1989. - Vol. 264. - P. 6389 - 6403.
- Greene D.A., Stevens M.J., Obrosova I., Feldman E.L. // *Eur. J. Pharmacol.* - 1999. - Vol. 375. - P. 217 - 223.
- Van Dam P.S., Van Asbeck B.S., Bravenboer B. et al. // *Metabolism*. - 1999. - Vol. 48. - P. 442 - 447.
- Martinez-Blasco A., Bosch-Morell F., Trenor C., Romero F.J. // *Biofactors*. - 1998. - Vol. 8. - P. 41 - 43.
- Junien C., Turleau C., de Grouchi J. et al. // *Ann. Genet.* - 1980. - Vol. 23. - P. 165-168.
- Folsberg L., de Faire U., Morgenstern R. // *Hum. Genet.* - 1999. - Vol. 13. - P. 294 - 300.
- Thomson G. // *Theor. Popul. Biol.* - 1981. - Vol. 20. - P. 168 - 208.
- Sakashita N., Ando Y., Marklund S.L. et al. // *Hum. Pathol.* - 1998. - Vol. 29. - P. 1169 - 1172.