

УДК 575.224.22

© Коллектив авторов

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ SNP-МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К САХАРНОМУ ДИАБЕТУ ТИПА 1 И 2

О.Е. Воронько, Н.В. Бодоев, А.И. Арчаков*

ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, 119121, Москва,
Погодинская ул., 10; тел: 246-16-41; эл. почта: vr_olga@yahoo.com

Однонуклеотидные замены (SNP) на сегодняшний день являются наиболее перспективными и удобными маркерами для исследования генетических основ мультифакторных заболеваний. Быстрое развитие технологий, позволяющих осуществлять точный скрининг большого объема генетической информации, построение геномных карт SNP-маркеров способствуют разработке инновационных диагностических систем на базе значимых SNP для оценки индивидуального генетического риска развития различных заболеваний. В обзоре рассматриваются основные аспекты генетики сахарного диабета типа 1 и 2 и возможность использования SNP в качестве маркеров для оценки индивидуальной генетической предрасположенности к данным заболеваниям.

Ключевые слова: генетические маркеры, SNP, сахарный диабет, генетическая предрасположенность.

ВВЕДЕНИЕ. Сахарный диабет (СД) является одним из самых распространенных заболеваний. В 2000 году в мире насчитывалось свыше 170 млн. больных сахарным диабетом, и предполагают, что к 2025 году их число удвоится [1].

За последние два десятилетия был достигнут определенный прогресс в исследовании генетических основ сахарного диабета, однако полной ясности в данном вопросе все еще нет. Полномасштабные сканирования генома, направленные на поиск хромосомных регионов, сцепленных с сахарным диабетом, не дали результатов, полностью объясняющих генетическую предрасположенность к диабету [2, 3].

Традиционный анализ сцепления не всегда подходит для исследования генетических основ мультифакторных заболеваний, поскольку в данном случае генетическая предрасположенность часто связана с носительством аллельных вариантов, широко распространенных в популяции, и поэтому сложно проследить передачу распространенного аллеля от родителя к больному потомку.

С построением карт SNP-маркеров началась новая эра в генетике мультифакторных патологий. SNPs (single nucleotide polymorphisms) - это однонуклеотидные замены в геномной ДНК, приводящие к существованию в популяции двух (реже трёх-четырёх) нуклеотидных вариантов с частотой редкого варианта (аллеля) не менее 1%. Иногда к SNP относят небольшие инсерции/делеции и изменения нескольких нуклеотидов [4]. По различным

* - адресат для переписки

оценкам в геноме человека присутствуют 3-10 миллионов SNP, что в среднем составляет 1 SNP на каждые 300-1000 пар оснований. В настоящее время в общедоступных базах данных имеется > 1,8 миллиона SNPs [5].

SNP оказались идеальными маркерами для сканирования генома с использованием метода неравновесия по сцеплению, поскольку удовлетворяют основным требованиям данного метода - маркеры должны плотно покрывать генетическую карту и иметь малое число аллелей. Помимо этого, SNP значительно упростили исследование генетической предрасположенности к заболеванию с использованием генов-кандидатов. Полагают, что составление карт SNP-маркеров человеческого генома сделает технически возможным проведение быстрого и относительно недорогого генотипирования большого количества пациентов.

Только за 2005 год было опубликовано более 100 статей по генетике диабета типа 1 и более 300 статей по генетике диабета типа 2. Более 150 статей были связаны с исследованием SNP-маркеров в генах-кандидатах [6]. Для того чтобы понять, насколько полученные результаты могут быть использованы для оценки индивидуального генетического риска, необходимо иметь представление о современных достижениях науки в области исследования генетики диабета типа 1 и 2.

1. Основные аспекты генетики сахарного диабета.

Согласно определению ВОЗ от 1999 года [7], сахарный диабет – группа метаболических заболеваний, характеризующихся гипергликемией, которая является результатом дефектов секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов.

Важность генетического компонента в патогенезе сахарного диабета подтверждают следующие факторы:

- близнецовые исследования показали более высокий уровень конкордантности у монозиготных близнецов, по сравнению с дизиготными;
- сегрегационный анализ демонстрирует, что в большинстве семей СД имеет сложную модель наследования, и родственники 1-й степени родства имеют риск выше популяционного;
- инактивация определенных генов у животных приводит к развитию инсулинорезистентности, увеличению секреции инсулина и развитию диабетического фенотипа;
- сканирование генома выявило наличие различных хромосомных областей, связанных с развитием диабета [8].

По генетической этиологии все случаи заболевания диабетом делятся на 3 большие группы: моногенные, полигенные (около 90% от всех случаев) и митохондриальные (связаны с мутациями в митохондриальной ДНК) [8]. Развитие моногенных форм обусловлено мутацией в единичном гене. У полигенных форм влияние каждого из генов, вовлечённых в развитие диабета, невелико, и генетическая предрасположенность определяется неблагоприятной комбинацией аллелей множества генов. Однако для развития диабета этого недостаточно – необходима совокупность генетической предрасположенности и воздействия факторов внешней среды. В данном обзоре под определениями “СД типа 1” и “СД типа 2” подразумеваются только распространенные, полигенные формы сахарного диабета.

2. Генетика сахарного диабета типа 1.

СД типа 1 развивается вследствие направленного аутоиммунного разрушения β -клеток поджелудочной железы, секретирующих гормон инсулин.

Роль генетических факторов в патогенезе данного типа диабета достаточно велика. Показано, что сибсы больного имеют риск в 15 раз выше популяционного – 6% против 0,4% соответственно. Однако достаточно низкий уровень семейного риска говорит о том, что развитие СД определяется совместным действием множества генов [9]. Конкордантность у монозиготных близнецов составляет 21-70%, у дизиготных – 0-13% [10]. Тот факт, что конкордантность у монозиготных близнецов никогда не достигает 100%, свидетельствует о том, что проявление генетической предрасположенности к заболеванию зависит от влияния факторов внешней среды.

Первоначально в ряде исследований было показано, что около 40% семейной кластеризации СД типа 1 определяется локусом МНС (major complex of histocompatibility), расположенном на хромосоме 6 – 6p21.3. Данный регион включает в себя более ста двадцати экспрессирующихся генов [11]. Наибольшая ассоциация с развитием диабета 1 типа была показана для генов *HLA* класса II - *DRB*, *DQA*, *DQB*. Наличие одного из аллелей гена *DRB* - *DR3* или *DR4* увеличивает риск развития диабета типа 1 в 36 раз, а гетерозиготность по данным аллелям – в 75 раз [10, 12]. Напротив, аллели *DR2*, обеспечивают протективный эффект. В среднем около 50% людей наследуют либо *DR3*, либо *DR4*, и около 3% - оба этих аллеля. Однако у диабетиков носительство либо *DR3*, либо *DR4* определяется в 95% случаев [2].

Аллели в *HLA*-регионе находятся в сильном неравновесии по сцеплению, поэтому трудно определить конкретную мутацию, ответственную за развитие заболевания. Помимо этого, локус *DRB* является высокополиморфным и содержит более 200 аллелей (328, по данным некоторых авторов [13]). Аллели гена *DRB* часто сцеплены с аллелями гена *DQB*, что говорит о том, что повышенный риск ассоциирован с гаплотипами, а не с отдельными аллелями. Например, мутации в гене *DQB*, приводящие к замене в кодируемом белке аспартата в 57 положении на какую-то другую аминокислоту, ассоциированы с развитием диабета, но риск увеличивается при наличии в геноме также и аллеля *DRB1*0401*, что свидетельствует о существовании как минимум 2-х отдельных локусов предрасположенности к диабету типа 1 [2]. У европейцев установлены два основных предрасполагающих гаплотипа: *DRB1*0301* - *DQA1*0501* - *DQB1*0201* (*DR3-DQ2*) и *DRB1*0401* - *DQA1*0301* - *DQB1*0302* (*DR4-DQ8*). Локус *DQ* также имеет протективные аллели, установлен и гаплотип, снижающий риск развития СД типа 1 - *DQA1*0102* – *DQB1*0602*. Примерно 20% людей имеют этот гаплотип, в то время как у диабетиков он встречается с частотой менее одного процента [14]. Однако локус *HLA* сам по себе не объясняет всех случаев развития диабета, более того, если абсолютный риск для родственников носителя предрасполагающего гаплотипа *DR3-DQ2* составляет около 20%, то на общепопуляционном уровне этот риск снижается до 5%.

Для определения хромосомных регионов, сцепленных с СД типа 1, было проведено 4 полномасштабных сканирования генома с использованием высокополиморфных микросателлитных маркеров, в ходе которых было определено 18 локусов предрасположенности к диабету, названных *IDDM1* – *IDDM18*. Затем, основываясь на полученных данных, было проведено еще одно исследование, объединившее результаты по 767 диабетическим семьям из Великобритании и США [2]. Все исследования подтвердили сцепление с диабетом только для трех локусов: *IDDM1*, содержащего *HLA* регион, *IDDM2*, содержащего ген инсулина, а также для области 2q33, содержащей ген *CTLA4* (*IDDM12*). Что касается остальных локусов, то данные разных исследователей противоречивы: часть локусов показали сцепление в нескольких отдельных работах, но не были воспроизведены при объединении данных различных исследователей; другие локусы показали сцепление только в одной работе и не были повторены другими исследователями [2]. В нашей стране в исследованиях на этнических русских была подтверждена связь области *HLA* с развитием СД типа 1. Также на русских семьях из Москвы была показана ассоциация локусов *IDDM8*, *IDDM9*, *IDDM10*, *IDDM12* и хромосомной области 11p13, содержащей ген каталазы (*CAT*) с сахарным диабетом типа 1 [15, 16].

Широкомасштабное геномное сканирование в 2005 году, объединившее все данные предыдущих исследований и результаты геномного поиска с использованием новых 254 диабетических семей, подтвердило сцепление с диабетом типа 1 только для шести хромосомных локусов - *IDDM1*, *IDDM2*, 2q31-q33 (*IDDM7*, *IDDM12*), 6q21 (*IDDM15*), 10p14-q11 (*IDDM10*) и 16q22-q24 [3].

Таким образом, локус *IDDM1* по-прежнему остается основным хромосомным регионом, определяющим наследственную предрасположенность к диабету типа 1.

Второй по значимости локус, *IDDM2*, содержит ген инсулина (*INS*). В гене *INS* обнаружен полиморфизм типа VNTR в 5' – нетранскрибируемой области [2]. Количество повторов в данном микросателлите определяет 3 разных класса аллелей: класс 1 – от 26 до 63 повторов, класс 2 (редкий у европейцев) – около 80 повторов, класс 3 – от 141 до 209 повторов. Данный полиморфизм влияет на транскрипцию гена инсулина в тимусе. Показано, что с диабетом ассоциированы аллели 1 класса – увеличивают риск развития диабета типа 1 в три раза [17]. Аллели этого класса присутствуют у 77% людей. Интересно, что в наследовании аллелей разных классов прослеживается значительная популяционная гетерогенность, связанная с геномным импринтингом в данной области хромосомы 11 [18].

Третий важный локус (*IDDM12*) расположен на хромосоме 2 – 2q33, и содержит ген *CTLA4*, кодирующий антиген 4, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами. Это Т-клеточный рецептор, трансмембранный гликопротеин, экспрессирующийся в течение 2-3 дней после активации Т-клетки. Через CTLA-4 подается сигнал к подавлению активации Т-лимфоцита. Показана достоверная ассоциация полиморфных маркеров данного гена со многими аутоиммунными патологиями.

Предполагают, что помимо этих трех наиболее значимых локусов, в развитие диабета типа 1 могут быть вовлечены от 50 до 100 генов. Действие большинства из них имеет слабый эффект, который не может быть определен традиционным анализом сцепления. В этом случае, возможно установление сцепления локуса с заболеванием с использованием неравновесия по сцеплению и tag SNPs (Tag SNP – SNP, находящийся в сильном неравновесии по сцеплению с другими SNP, расположенными в данном локусе. Генотипирование по tag SNPs позволяет установить генотипы всех находящихся с ними в неравновесии по сцеплению SNP без дополнительного генотипирования, что широко используется в полномасштабных сканированиях генома). Так, с помощью tag SNPs недавно был идентифицирован новый локус предрасположенности к СД типа 1 на хромосоме 10 в области *IL2RA/CD25* [19].

Другой вариант – анализ ассоциации гена с заболеванием. В настоящее время только для двух генов (*CTLA4* и *PTPN22*) была показана ассоциация с СД типа 1, подтвержденная несколькими группами исследователей.

SNP-маркер *A49G* гена *CTLA4* показал сильную ассоциацию с СД типа 1, которая первично была продемонстрирована в исследованиях с использованием семей, а затем подтверждена на выборках “случай-контроль”. Также ассоциация была продемонстрирована для других SNPs в данном гене: *6230G/A* (CT60) и *-318 C/T*. В дальнейшем было показано, что уровень мРНК растворимой изоформы CTLA4 (sCTLA4) коррелирует с аллелями SNP (rs3087243), расположенного в 3'– некодирующей области гена *CTLA4* [20].

Ген *PTPN22* кодирует тирозинфосфатазу лимфоцитов (LYP), основной функцией которой является подавление активации Т-клеток за счет дефосфорилирования трех киназ, необходимых для передачи внутриклеточного сигнала. Помимо этого, подавление активации Т-лимфоцитов осуществляется за счет взаимодействия LYP с супрессором киназ – тирозинкиназой Csk [21]. Ассоциация с СД типа 1 была продемонстрирована для SNP, приводящего к аминокислотной замене *Arg620Trp*. Данная замена нарушает связывание LYP с Csk, что ведет к гиперреактивному Т-клеточному ответу [22]. Несмотря на то, что ассоциация маркера *Arg620Trp* с СД типа 1 была подтверждена многими исследователями [23, 24], следует заметить, что этот полиморфизм картирован в области сильного неравновесия по сцеплению размером 293 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.), в которой находятся еще 6 известных генов и 625 SNP. Возможно, что ассоциация данного SNP с СД типа 1 является всего лишь отражением влияния другого полиморфизма, с которым может быть сцеплен *Arg620Trp* [25].

В ряде работ была показана ассоциация с СД типа 1 полиморфных маркеров *M55V* гена *SUMO4* [26, 27], *G-174C* гена *IL6* [28], а также некоторых SNP в генах *IL12* [29] и *PAX4* [30], однако эти данные не были подтверждены другими исследователями, и роль указанных генов в патогенезе диабета остается спорной. Еще в одном исследовании был установлен протективный SNP- гаплотип гена интерлейкина-4, однако две других работы не подтвердили эти данные [31].

Российские исследователи добились значительных успехов в области генетики сосудистых осложнений сахарного диабета – диабетической нефропатии и диабетической полинейропатии [32–34]. Однако, вклад генетических факторов в развитие сосудистых осложнений при сахарном диабете и вопрос оценки персонального риска развития данных осложнений представляют собой тему, обсуждение которой выходит за рамки данного обзора.

3. Генетика СД типа 2.

Этот тип диабета составляет примерно 90% всех случаев диабета в популяции, характеризуется резистентностью тканей к действию инсулина, и в основе своей первично связан с нарушениями метаболизма.

СД типа 2 обнаруживает семейное накопление, однако идентификация наследственных факторов предрасположенности к этому типу диабета встречает значительные трудности из-за генетической гетерогенности и выраженной зависимости от действия факторов внешней среды, таких как возраст, масса тела, стиль жизни, диета, физическая активность и т.д. Абсолютный риск для sibсов составляет 30–40%, при среднем популяционном риске – 7%. Конкордантность для монозиготных близнецов составляет от 34 до 83%, для дизиготных – от 10 до 40% [2].

Для выявления локусов, сцепленных с СД типа 2, был проведен геномный скрининг в ряде этнических групп. Были картированы около 30 регионов, содержащих локусы предрасположенности к СД типа 2 [35]. Некоторые регионы показали сцепление с диабетом типа 2 более чем в одной работе, однако ни один локус не показал сильного сцепления во всех исследованных популяциях, что свидетельствует об отсутствии локусов с сильным эффектом и явном влиянии этнической принадлежности. Результаты разных исследований практически не перекрываются и различны в европейских и азиатских популяциях [8], что показывает, что СД типа 2 может представлять собой группу заболеваний с различной генетической основой.

Хромосомные области, сцепление которых с диабетом показано более чем в одной работе, включают в себя локусы 1q25.3, 2q37.3, 3p24.1, 3q28, 10q26.13, 12q24.31 и 18p11.22 [2]. Наиболее перспективным является сейчас регион 1q25.3, сцепление которого с СД типа 2 было показано первоначально у индейцев Пима, а затем подтверждено работами на нескольких европейских популяциях. Эта хромосомная область содержит гены аполипопротеина A2, пируваткиназы печени (*PKLR*) и *LMX1* – регулятора транскрипции гена инсулина. Оба локуса на хромосоме 3 также демонстрируют сильное сцепление с СД типа 2 во многих работах, а область 3q, помимо этого, сцеплена с ожирением [2].

SNP были использованы в массовом анализе с целью поиска генов-кандидатов в двух исследованиях: 398 SNP в 120 генах-кандидатах в японской популяции [36] и 152 SNP в 71 гене у европейцев [37]. Оба исследования показали, что СД типа 2 ассоциирован с небольшим количеством генов – геном ядерного фактора гепатоцитов 4α (*HNF4α*), геном переносчика глюкозы 2 (*GLUT2*) и геном субстрата рецептора инсулина 1 (*IRS1*). Единственным геном, показавшим ассоциацию в обоих исследованиях, оказался *SUR1*, подробнее о котором будет рассказано ниже.

За последние 10 лет в поисках ассоциации с СД типа 2 были исследованы генетические маркеры более чем в 150 генах. Можно выделить несколько генов, которые в настоящее время привлекают наибольшее внимание исследователей.

CAPN10. Ген калпаина-10, внутриклеточной Ca^{2+} -активируемой цистеиновой протеазы, был картирован на хромосоме 2 – 2q37.3. Это единственный ген,

найденный позиционным клонированием, для которого ассоциация с СД типа 2 была показана в различных популяциях [38, 39]. Точная роль калпаина-10 в патогенезе диабета до сих пор не ясна. Примечательно, что риск развития диабета связан не с одним SNP, а с комбинацией аллелей трех SNP. Данные SNP -43, -19, -63 расположены в некодирующих областях гена – в интронах 3, 6 и 19 и, вероятно, связаны с регуляцией транскрипции гена калпаина-10. Гаплотип 112/121 по данным маркерам повышает риск диабета в 3 раза у мексиканцев американского происхождения, финнов, немцев [40]. Но данные по другим популяциям противоречивы, что, возможно, связано с сильной межпопуляционной разницей в частоте аллелей [41, 42].

TCF7L2. В 2006 году группой исландских исследователей была опубликована работа по генетическому картированию локуса предрасположенности на хромосоме 10q, для которого ранее была показана ассоциация с диабетом типа 2 [43]. Обнаружено, что полиморфный маркер, находящийся внутри интрона 3 гена *TCF7L2*, связан с высоким риском развития заболевания ($OR=2,41$), при этом популяционный риск у носителей предрасполагающего аллеля составил 21%. Результаты были подтверждены в американской [44], финской [45] и британской [46] популяциях. В каждой из работ были обнаружены новые полиморфные маркеры; для одного из SNP, rs7903149, достоверность ассоциации составила $1,3 \times 10^{-11}$. Известно, что продукт гена *TCF7L2* участвует в регуляции уровня глюкозы в крови путем изменения экспрессии гена проглюкагона [43].

PPARG. Ген кодирует ядерный рецептор $PPAR\gamma$, индуцирующий транскрипцию генов, продукты которых определяют чувствительность к инсулину, развитие воспалительных реакций и дифференцировку адипоцитов. $PPAR\gamma$ также является мишенью для действия антидиабетического препарата тиазолидиндиона. Мутации в гене *PPARG* вызывают ожирение, резистентность к инсулину и диабет. Основной SNP-маркер в этом гене, ассоциированный с СД типа 2 – *Pro12Ala*. Носительство *Ala* уменьшает риск развития диабета на 10%, за счет снижения ДНК-связывающей и транскрипционной активности белка, в то время как гомозиготность по аллелю *Pro* – увеличивает риск на 25%. Важным моментом является то, что хотя индивидуальный риск при наличии аллеля *Pro* в геноме не слишком велик, тем не менее этот аллель встречается в популяции с высокой частотой – около 75% европейцев гомозиготны по данному аллелю [2].

HNFA. $HNF4\alpha$ (ядерный фактор гепатоцитов 4 α) представляет собой транскрипционный фактор, выявляемый в клетках печени и поджелудочной железы. Первоначально было установлено, что $HNF4\alpha$ вовлечен в регуляцию транскрипции генов инсулина, альдолазы В и митохондриального белка-разобщителя UCP2 (uncoupling protein 2). В недавнем исследовании был проведен скрининг 13 тысяч промоторов различных генов для выявления роли данного транскрипционного фактора. Показано, что $HNF4\alpha$ регулирует экспрессию порядка 910 генов в гепатоцитах и 665 генов в клетках поджелудочной железы [47]. Ген *HNF4A* имеет альтернативный промотор P2, расположенный в 46 т.п.н. перед оригинальным промотором гена - P1. В нескольких работах было показано, что один из SNP в P2 ассоциирован с СД типа 2 [48, 49].

SUR1 (ABCC8) и KCNJ1 (Kir6.2). Эти гены, расположенные рядом на хромосоме 11, кодируют белки, которые формируют АТФ-зависимый кальциевый канал, играющий центральную роль в глюкозоиндуцированной секреции инсулина. Помимо этого белок ABCC8 является мишенью для действия лекарственных препаратов группы сульфонилмочевины, применяемых для лечения СД типа 2. Показано, что однонуклеотидная замена G/A в кодоне 1273 гена *SUR1*, не приводящая к аминокислотной замене, ассоциирована с повышенной секрецией инсулина, и, таким образом, может быть связана с повышенным риском СД типа 2. Последовательность гена *KCNJ1 (Kir6.2)* содержит несколько SNP, приводящих к аминокислотным заменам. Для одного из них, *E23K*, показана ассоциация с развитием СД типа 2, подтвержденная в исследованиях на многих

европейских популяциях. Помимо этого, показано, что у индивидов, не болеющих диабетом, но имеющих *E23K* SNP в геноме, наблюдается гиперсекреция инсулина и повышенный индекс массы тела [50].

APM1 (ADIPOQ). Ген адипонектина - гормона, вырабатываемого жировой тканью, - картирован на хромосоме 3 – 3q27. Экспериментальным путем было показано, что адипонектин уменьшает инсулинорезистентность, стимулируя фосфорилирование тирозина рецептора инсулина. В мышечной ткани адипонектин стимулирует окисление свободных жирных кислот, уменьшает интрамиоцеллюлярные накопления липидов и улучшает чувствительность мышечной ткани к инсулину. Также было установлено, что адипонектин обладает противовоспалительными и антиатерогенными эффектами. Ассоциация с СД типа 2 показана для двух SNP в гене адипонектина - *T45G* и *G276T*, причем для женщин риск развития диабета, связанный с данными SNP почти в 5 раз выше, чем для мужчин [51].

RETN. Еще один гормон жировой ткани, резистин, связан с ингибированием действия инсулина на периферические ткани. Риск развития СД типа 2 ассоциирован с SNP 6 (*IVS2 + 181G* → *A*) в гене резистина и коррелирует с повышенной массой тела [52].

Ранее было установлено, что некоторые мутации в митохондриальной ДНК приводят к развитию определенного подтипа диабета, наследуемого по материнской линии. Недавно было показано, что носители гаплогрупп J/T митохондриальной ДНК более подвержены развитию инсулинорезистентности и СД типа 2 [53], что вызвало новый интерес к исследованию митохондриальных генов.

В последние несколько лет начался новый этап исследований генетики СД типа 2. Подход “генов-кандидатов” был дополнен стратегией с использованием локусов количественных признаков (QTL), когда исследуются полиморфные маркеры, равномерно распределенные по всем хромосомам. Каждый из них проверяют на ассоциацию не только с наличием заболевания, но и с определенными количественными признаками, как, например, с уровнем глюкозы, индексом массы тела, возрастом, в котором был поставлен диагноз, наличием осложнений [54, 55].

Другое перспективное направление связано с исследованием генов, вовлеченных в развитие метаболического синдрома (МС). К настоящему времени опубликовано большое количество работ, в которых атеросклероз, СД типа 2, а также ожирение и артериальная гипертензия рассматриваются как клинические проявления “метаболического синдрома”, имеющего в своей основе гиперинсулинемию и инсулинорезистентность. Подтверждением взаимосвязи СД типа 2 и МС служит и тот факт, что в десятке генов, показывающих наибольшую ассоциацию с СД типа 2, половина так или иначе связана с ожирением или нарушениями липидного обмена.

4. Последние достижения в исследовании генетики сахарного диабета.

2007 год ознаменовался прорывом в области генетики сахарного диабета. В июне 2007 года в журнале *Nature* были опубликованы результаты крупнейшего геномного поиска [56]. В данном исследовании, представленном Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC), авторы использовали выборку из 17 тысяч человек (3000 здорового контроля и ~ по 2000 пациентов с шестью распространенными мультифакторными заболеваниями, в т.ч. СД типа 1 и СД типа 2) для полномасштабного геномного сканирования с использованием ~ 500 000 SNP. Результатом данной работы стало, во-первых, подтверждение сцепления с СД типа 1 шести, а с СД типа 2 - трех известных ранее локусов; во-вторых, открытие новых хромосомных областей, сцепленных с СД типа 1 и СД типа 2.

Одновременно в *Nature Genetics* и *Science* были опубликованы статьи с результатами дополнительной проверки ассоциаций, полученных в исследовании WTCCC [57,58]. Авторы статей также более плотно покрыли дополнительными SNP-маркерами области подтвержденного сцепления для установления более точной локализации маркеров, непосредственно ассоциированных с диабетом.

SNP-МАРКЕРЫ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Основная часть результатов, полученных в исследовании WTCCC для СД типа 1, получила подтверждение, однако для некоторых локусов ассоциация с СД типа 1 не подтвердилась и была признана ложноположительной. Что касается результатов, полученных для СД типа 2, то они были не только воспроизведены другой группой исследователей, но также получили подтверждение в новом геномном поиске маркеров для СД типа 2, проведенном на финской популяции с использованием SNP [59]. Основные локусы, показавшие сцепление с СД типа 1 и СД типа 2 в исследовании WTCCC и подтвержденные другими исследователями, представлены в таблице.

Таблица. Гены и хромосомные локусы, показавшие ассоциацию с СД типа 1 и СД типа 2 в ходе полномасштабных геномных поисков в 2007 году.

СД типа 1 [56, 57]		СД типа 2 [56, 58, 59]	
Локус	Ген	Локус	Ген
1p13	<i>PTPN22</i>	3p25	<i>PPARG</i>
2q33	<i>CTLA4</i>	3q27	<i>IGF2BP2</i>
2q24	<i>IFIH1/MDA5</i>	6p22	<i>CDKAL1</i>
6p21	<i>HLA</i>	8q24	<i>SLC30A8</i>
10p15	<i>INS</i>	9p21	<i>CDKN2A/CDK</i>
11p15	<i>CD25</i>	10q11	<i>N2B</i>
12q13	<i>ERBB3</i>	10q25	<i>HHEX/IDE</i>
12q24	<i>SH2B3</i>	11p15	<i>TCF7L2</i>
16p13	<i>KIAA0350</i>	16q12	<i>KCNJ11</i>
18p11	<i>PTPN2</i>		<i>FTO</i>

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Каковы же перспективы оценки индивидуального генетического риска развития СД типа 1 и СД типа 2 с использованием SNP-генотипирования?

Прежде всего, современные технологии идентификации SNP позволяют достаточно быстро и качественно проводить генотипирование по важным аллелям локуса *HLA* - *DRB-DQA-DQB*, поскольку большинство значимых полиморфизмов в данном локусе представляют собой SNP, приводящие к аминокислотным заменам. Высокая полиморфность и сильное неравновесие по сцеплению, характерные для данного локуса, до недавнего времени затрудняли проведение быстрого высокоточного генотипирования. Однако в последнее время разработан ряд подходов, позволяющих решать проблемы такого рода [60, 61]. В частности, для генотипирования по локусу *DRB*, сейчас используются подходы, основанные на методах Taqman и SnaPShot, с использованием мультиплексных реакций. Сейчас практически любая биотехнологическая компания имеет в своем арсенале наборы, позволяющие идентифицировать значимые аллели локуса *HLA*. В гене инсулина также определены SNPs, находящиеся в сцеплении с аллелями маркера VNTR.

Еще два важнейших гена, SNP-маркеры которых могут быть использованы для оценки индивидуального генетического риска развития СД типа 1 - *CTLA4* и *PTPN22*, помимо СД типа 1, ассоциированы также с рядом аутоиммунных заболеваний, и, скорее всего, отражают не только ассоциацию с диабетом, но и предрасположенность индивида к аутоиммунным патологиям [56]. Что же касается SNP-маркеров, показавших ассоциацию в недавних исследованиях, то предполагают, что они совместно с SNP в ранее известных локусах предрасположенности (т.е. все 10 локусов, приведенные в таблице) и факторами внешней среды определяют около 70% случаев заболевания СД типа 1. Это создает предпосылки для разработки панели SNP-маркеров, определяющих генетическую предрасположенность к развитию СД типа 1.

Несмотря на накопленный объем знаний в области генетики сахарного диабета типа 2 на данный момент сложно создать высокоинформативную панель SNP-маркеров, пригодную для точного предиктивного анализа. Пока только для трех генов показана стабильная ассоциация с СД типа 2: *PPARG*, *TCF7L2* и *KCNJ11*. SNP-маркеры этих генов могут быть использованы для оценки индивидуального генетического риска развития СД типа 2. Остальные маркеры, полученные в ходе последних исследований, требуют дальнейшей проверки и более точной локализации SNPs, предрасполагающих к развитию СД типа 2. Можно ожидать, что бурное развитие технологий, позволяющих осуществлять быстрый и точный скрининг большого объема генетической информации, использование геномной карты SNP-маркеров для СД типа 2, активное исследование генетических основ метаболического синдрома позволят в дальнейшем разработать инновационные диагностические системы на базе значимых SNP-маркеров для оценки индивидуального генетического риска развития сахарного диабета типа 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zimmet P., Alberti K.G., Shaw J. (2001) *Nature*, **414**, 782–787.
2. Florez J.C., Hirschhorn J., Altschuler D. (2003) *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, **4**, 257–291.
3. Concannon P., Erlich H. A., Julier C., Morahan G., Nerup J., Pociot F.F., Todd J.A., Rich S.S., and the Type 1 Diabetes Genetics Consortium (2005) *Diabetes*, **54**, 2995–3001.
4. Brookes A.J. (1999) *Gene*, **234**, 177–186.
5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=search&term=SNP+genetics+diabetes>
7. http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf
8. Luna M.T.T. (2005) *Arch. Med. Res.*, **36**, 210–222.
9. Field L.L. (2002) *Diabetologia*, **45**, 21–35.
10. Redondo M.J., Fain P.R., Eisenbarth G.S. (2001) *Rec. Prog. Horm. Res.*, **56**, 69–89.
11. Stewart C.A., Horton R., et al., (2004) *Genome Research*, **14**, 1176–1187.
12. Hirschhorn J.N. (2003) *Pediatr. Diabetes*, **4**(2), 87–100.
13. Jaakkola E., Herzberg I., Crane A.M., Pointon J.J., Laiho K., Kauppi M., Kaarela K., Wordsworth B.P., Tuomilehto J., Brown M.A. (2004) *Tissue Antigens*, **64**, 88–95.
14. Redondo M.J., Kawasaki E., Mulgrew C.L. (2000) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **85**, 3793–3797.
15. Носиков В.В., Серегин Ю.А., Титович Е.В., Савостьянов К.В., Зильберман Л.И., Чистяков Д.А., Кураева Т.Л., Дедов И.И. (2002) *Сахарный диабет*, **1**, 34–37.
16. Chistiakov D.A., Seryogin Y.A., Turakulov R.I., Savost'yanov K.V., Titovich E.V., Zilberman L.I., Kuraeva T.L., Dedov I.I., Nosikov V.V. (2005) *J. Autoimmun.*, **24**(3), 243–250.

17. *Achenbach P., Bonifacio E., Ziegler A.G.* (2005) *Curr. Diab. Rep.*, **5**(2), 98-103.
18. *Bennett S.T., Wilson A.J., Esposito L., Bouzekri N., Undlien D.E., Cucca F., Nistico L., Buzzetti R., Bosi E., Pociot F., Nerup J., Cambon-Thomsen A., Pugliese A., Shield J.P., McKinney P.A., Bain S.C., Polychronakos C., Todd J.A.* (1997) *Nat. Genet.*, **17**(3), 350-352.
19. *Vella A., Cooper J.D., Lowe C.E., Walker N., Nutland S., Widmer B., Jones R., Ring S.M., McArdle W., Pembrey M.E., Strachan D.P., Dunger D.B., Twells R.C., Clayton D.G., Todd J.A.* (2005) *Am. J. Hum. Genet.*, **76**, 773-779.
20. *Ueda H., Howson J.M., Esposito L., Heward J., Snook H., Chamberlain G., Rainbow D.B., Hunter K.M., Smith A.N., Di Genova G. et al.* (2003) *Nature*, **423**, 506-511.
21. *Hill R.J., Zozulya S., Lu Y.L., Ward K., Gishizky M., Jallal B.* (2002) *Exp. Hematol.*, **30**, 237-244.
22. *Bottini N., Musumeci L., Alonso A., Rahmouni S., Nika K., Rostamkhani M., MacMurray J., Meloni G.F., Lucarelli P., Pellecchia M., Eisenbarth G.S., Comings D., Mustelin T.* (2004) *Nat. Genet.*, **36**, 337-338.
23. *Smyth D., Cooper J.D., Collins J.E., Heward J.M., Franklyn J.A., Howson J.M., Vella A., Nutland S., Rance H.E., Maier L. et al.* (2004) *Diabetes*, **53**, 3020-3023.
24. *Ladner M.B., Bottini N., Valdes A.M., Noble J.A.* (2005) *Hum. Immunol.*, **66**, 60-64.
25. *Kim M.S., Polychronakos C.* (2005) *Horm. Res.*, **64**, 180-188.
26. *Guo D., Li M., Zhang Y., Yang P., Eckenrode S., Hopkins D., Zheng W., Purohit S., Podolsky R.H., Muir A. et al.* (2004) *Nat. Genet.*, **36**, 837-841.
27. *Bohren K.M., Nadkarni V., Song J.H., Gabbay K.H., Owerbach D.J.* (2004) *Biol. Chem.*, **279**, 27233-27238.
28. *Kristiansen O.P., Nolsue R.L.* (2003) *Human Molecular Genetics*, **12**(10), 1101-1110.
29. *Bassuny W.M., Ihara K., Kimura J., Ichikawa S., Kuromaru R., Miyako K., Kusuvara K., Sasaki Y., Kohno H., Matsuura N., Nishima S., Hara T.* (2003) *Diabetes*, **55**, 189-192.
30. *Biason-Lauber A., Boehm B., Lang-Muritano M., Gauthier B.R., Brun T., Wollheim C.B., Schoenle E.J.* (2005) *Diabetologia*, **48**(5), 900-905.
31. *Maier L.M., Chapman J., Howson J.M., Clayton D.G., Pask R., Strachan D.P., McArdle W.L., Twells R.C., Todd J.A.* (2005) *Am. J. Hum. Genet.*, **76**(3), 517-521.
32. *Савостьянов К.В., Шестакова М.В., Якунина Н.Ю., Викулова О.К., Воронько О.Е., Чугунова Л.А., Шамхалова М.Ш., Дедов И.И., Носиков В.В.* (2005) *Пробл. эндокринол.*, **№3**, 18-22.
33. *Shestakova M.V., Vikulova O.K., Gorashko N.M., Voronko O.E., Babunova N.B., Nosikov V.V., Dedov I.I.* (2006) *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **74**, 41-50.
34. *Воронько О.Е., Якунина Н.Ю., Строков И.А., Лаврова И.Н., Носиков В.В.* (2005) *Мол. биол.*, **39**(2), 230-234.
35. *Barroso I.* (2005) *Diabetic Medicine*, **22**, 517-535.
36. *Daimon M., Ji G., Saitoh T., Oizumi T., Tominaga M., Nakamura T., Ishii K., Matsuura T., Inageda K., Matsumine H., Kido T., Htay L., Kamatani N., Muramatsu M., Kato T.* (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **302**, 751-758.
37. *Barroso I., Luan J., Middelberg R.P., Harding A.H., Franks P.W., Jakes R.W., Clayton D., Schafer A.J., O'Rahilly S., Wareham N.J.* (2003) *PLoS Biol.*, **1**(1), E20.
38. *Lynn S., Evans J.C., White C., Frayling T.M., Hattersley A.T., Turnbull D.M., Horikawa Y., Cox N.J., Bell G.I., Walker M.* (2002) *Diabetes*, **51**, 247-250.
39. *Cox N.J.* (2002) *Curr. Diab. Rep.*, **2**, 186-190.
40. *Horikawa Y., Oda N., Cox N.J. et al.* (2000) *Nat. Genet.*, **26**(2), 163-175.
41. *Fullerton S.M., Bartoszewicz A., Ybazeta G., Horikawa Y., Bell G.I., Kidd K.K., Cox N.J., Hudson R.R., Di Rienzo A.* (2002) *Am. J. Hum. Genet.*, **70**, 1096-1106.
42. *Tsuchiya T., Schwarz P.E., Bosque-Plata L.D., Geoffrey Hayes M., Dina C., Froguel P. et al.* (2006) *Mol. Genet. Metab.*, **89**(1-2), 174-184.

43. Grant S.F., Thorleifsson G., Reynisdottir I., Benediktsson R., Manolescu A. et al. (2006) *Nat. Genet.*, **38**(3), 320-323.
44. Zhang C., Qi L., Hunter D.J., Meigs J.B., Manson J.E., van Dam R.M., Hu F.B. (2006) *Diabetes*, **55**(9), 2645-2648.
45. Scott L.J., Bonnycastle L.L., Willer C.J., Sprau A.G., Jackson A.U., Narisu N., Duren W.L., Chines P.S., Stringham H.M., Erdos M.R., Valle T.T., Tuomilehto J., Bergman R.N., Mohlke K.L., Collins F.S., Boehnke M. (2006) *Diabetes*, **55**(9), 2649-2653.
46. Groves C.J., Zeggini E., Minton J., Frayling T.M., Weedon M.N., Rayner N.W., Rayner N.W., Hitman G.A., Walker M., Wiltshire S., Hattersley A.T., McCarthy M.I. (2006) *Diabetes*, **55**(9), 2640-2644.
47. Odom D.T., Zizlsperger N., Gordon D.B., Bell G.W., Rinaldi N.J., Murray H.L., Volkert T.L., Scheiber J., Rolfe A., Gifford D.K., Fraenkel E., Bell G.I., Young R.A. (2004) *Science*, **303**, 1378-1381.
48. Silander K., Mohlke K.L., Scott L.J. et al., (2004) *Diabetes*, **53**(4), 1141-9.
49. Love-Gregory L.D., Wasson J., Ma J., Jin C.H., Glaser B., Suarez B.K., Permutt M.A. (2004) *Diabetes*, **53**(4), 1134-1140.
50. Gloyn A.L., Weedon M.N., Owen K.R., Turner M.J., Knight B.A., Hitman G., Walker M., Levy J.C., Sampson M., Halford S., McCarthy M.I., Hattersley A.T., Frayling T.M. (2003) *Hum. Genet.*, **52**, 568-572.
51. Kretowski A., Gugala K., Okruszko A., Wawrusiewicz-Kurylonek N., Gorska M. (2005) *Rocz. Akad. Med. Bialymst.*, **50**, 148-150.
52. Ma X., Warram J.H., Trischitta V., Doria A. (2002) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**(9), 4407-4410.
53. Crispim D., Canani L.H., Gross J.L., Tschiedel B., Souto K.E., Roisenberg I. (2006) *Am. Hum. Genet.*, **70**(Pt 4), 88-95.
54. Brown A.C., Olver W.I., Donnelly C.J., May M.E., Naggert J.K., Shaffer D.J., Roopenian D.C. (2005) *BMC Genet.*, **6**(1), 12.
55. Yaguchi H., Togawa K., Moritani M., Itakura M. (2005) *Genomics*, **85**(5), 591-599.
56. The Wellcome Trust Case Control Consortium (2007) *Nature*, **447**, 661-678.
57. Todd J.A., Walker N.M., Cooper J.D. et al. (2007) *Nature Genetics*, **39**, 857-864.
58. Zeggini E., Weedon M.N., Lindgren C.M. et al. (2007) *Science*, **316**(5829): 1336-1341.
59. Scott L.J., Mohlke K.L., Bonnycastle L.L. et al. (2007) *Science*, **316**(5829): 1341-1345.
60. Itoh Y., Mizuki N., Shimada T., Azuma F., Itakura M., Kashiwase K., Kikkawa E., Kulski J.K., Satake M., Inoko H. (2005) *Immunogenetics*, **57**(10), 717-729.
61. Imabayashi K., Yamamoto Y., Inagaki S., Doi Y., Yosimoto K., Miyaishi S., Ishizu H. (2005) *Acta Med. Okayama*, **59**(5), 179-194.

Поступила: 20. 10. 2006.

THE USE OF SNP MARKERS FOR ESTIMATION OF INDIVIDUAL GENETIC
PREDISPOSITION TO DIABETES MELLITUS TYPE 1 AND 2

O.E. Voronko, N.V. Bodoev, A.I. Archakov

Research Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Science,
Pogodinskaya ul., 10, Moscow, 119121 Russia; tel: +7-495-246-16-41; e-mail: vr_olga@yahoo.com

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are now considered as the most perspective and convenient markers for research of genetic bases of multifactorial diseases. Fast development of technologies for exact screening of great volume of genetic information, construction of genomic maps of SNP-markers promotes development of innovative diagnostic systems on the basis of significant SNP for an estimation of individual genetic risk of development of various diseases. In this review the basic aspects of genetics of a diabetes of type 1 and 2 and an opportunity of use SNP as markers for an estimation of individual genetic predisposition to the given diseases are considered.

Key words: genetic markers, SNP, diabetes, genetic predisposition.