

УДК 616-008.9:616.441]-092-08

Поступила 31.05.2015

Н. О. АБРАМОВА, Н. В. ПАШКОВСКАЯ (ЧЕРНОВЦЫ)

ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ С/Т ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DIO1 И PRO197LEU ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА GPX1 У БОЛЬНЫХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет» <natalloka84@gmail.com>

Тиреоидные гормоны принимают участие в регуляции многих физиологических процессов в организме, поэтому изучение процесса их синтеза и его нарушений является особенно важным. Нами исследовано С/Т полиморфизм гена d Io 1 и Pro197Leu полиморфизм гена g PX1 у 102 больных с метаболическим синдромом. При анализе полученных данных обнаружено, что носительство Т-аллели гена d Io 1 и Leu-аллели гена g PX1 ассоциировано со снижением продукции сТ₃, увеличением уровня сТ₄, снижением соотношения сТ₃/сТ₄ и суммарного тиреоидного индекса. Носительство Т-аллели гена d Io 1 и Leu-аллели гена g PX1 связано с нарушением метаболизма тиреоидных гормонов.

Ключевые слова: С/Т полиморфизм гена DIO1, Pro197Leu полиморфизм гена GPX 1, метаболический синдром, обмен тиреоидных гормонов.

Вступление. В последнее время особое внимание исследователи уделяют нарушению обмена тиреоидных гормонов на фоне сопутствующей патологии. Известно, что у 70 % госпитализированных нарушается периферическая конверсия этих гормонов с развитием синдрома эутиреоидной патологии (СЭП) [14]. Тиреоидные гормоны принимают участие в регуляции многих физиологических процессов в организме, поэтому изучение процесса их синтеза и его нарушений является особенно важным. Значительное участие в метаболизме тиреоидных гормонов принимают некоторые селеноэнзимы, в том числе дейодиназы и глутатионпероксидазы [13]. Дейодиназа 1-го типа (D1) является одной из семейства дейодиназ, регулирующих активность тиреоидных гормонов путём 5'-монодейодирования тироксина (Т₄) с образованием в 5 раз более активного трийодтиронина (Т₃) в печени, почках, щитовидной железе. Транскрипты DIO1 обнаружены также в гипофизе, кишечнике, плаценте и гонадах [10].

В организме человека обнаружено пять типов глутатионпероксидаз (ГП). ГП 1–3 катализируют восстановление пероксида водорода и органических гидроперекисей. Инактивация перекиси водорода, продуцируемого в фолликулах щитовидной железы для синтеза тиреоидных гормонов, является важной для защиты органа [9].

Регуляция синтеза D1 осуществляется геном DIO1, находящимся в Р 32 – Р33 участке 1-й хромосомы [5]. В нашем исследовании для изучения этой зависимости мы выбрали С/Т полиморфизм в позиции 785 гена DIO1 комплементарной ДНК.

R. Peeters и соавт. [12] обнаружили, что наличие «дикий» T-аллели в генотипе в дозозависимом виде было связано с увеличением количества обратного T_3 (rT_3), увеличением соотношения rT_3/T_4 и снижением соотношения T_3/rT_3 . Аналогичные результаты получили Frank Jan de Jong и соавт. [8].

Человеческий ген GPX1 локализован в 3p21 хромосоме и состоит из двух экзонов. Известно несколько однонуклеотидных вариантов полиморфизма данного гена. Мы изучали Pro197Leu полиморфизм, при котором в позиции 593 аминокислота цистеин (C) заменяется на тимин (T) (C593T), результатом чего является замена аминокислоты пролин на лейцин в кодоне 197 [3].

В настоящее время недостаточно исследован вопрос о зависимости тиреоидного обеспечения больных с метаболическим синдромом (МС) от полиморфизма DIO1 и GPX1.

Цель исследования – изучить влияние C/T полиморфизма гена DIO1 и Pro197Leu полиморфизма гена GPX1 на показатели тиреоидного гомеостаза у больных с МС.

Материалы и методы. C/T полиморфизм гена DIO1 и Pro197Leu полиморфизм гена GPX1 исследованы у 102 больных с МС и у 97 практически здоровых путём выделения геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови, после чего на программируемом амплификаторе «Amplify-4L» («Biosom», Москва), при индивидуальной температурной реакции, осуществляли амплификацию полиморфного участка в виде полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для выделения ДНК из лимфоцитов использовали реактивы «ДНК-сорб-В» вариант 100 (ФГУН ЦНИИЭ, Россия) согласно инструкции. Использовали следующий набор праймеров: для определения C/T полиморфизма гена DIO1 – forward – 5'-GAACTTGATGTGAAGGCTGGA-3' и reverse – 5'-TAACTCAGCTGGGAGTTGTTT-3'. Для идентификации Pro197Leu полиморфизма гена GPX1: forward – 5'-TCGAAGCCCTGCTGTCTCA-3' и reverse – 5'-CGAGACAGCAGCACTGCAA-3'. Для приготовления проб ПЦР применяли набор «АмплиСенс-200-1» (ФГУН ЦНИИЭ, Россия). Дискриминацию аллелей гена DIO1 проводили с помощью специфической эндонуклеазы рестрикции Bcl I фирмы «Fermentas[®]», США, гена GPX1 – с помощью эндонуклеазы рестрикции – Ksp221 фирмы «СибЭнзайм» (Россия). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 3% агарозном геле при наличии трис-боратного буфера, концентрированного с бромидом этидия. Фрагменты визуализировали с помощью трансиллюминатора с использованием маркера молекулярных масс 100–1000 bp («Fermentas[®]», США).

Для оценки соответствия исследуемых частот генотипов теоретически ожидаемому распределению при уравнении Харди – Вейнберга использовали критерий χ^2 Пирсона. С целью установления ассоциации полиморфного варианта гена с патологическим фенотипом рассчитывали показатель соотношения шансов (СШ) с определением 95 % доверительного интервала (ДИ).

Чтобы изучить зависимости обмена тиреоидных гормонов от C/T полиморфизма гена DIO 1, мы разделили больных на следующие группы: 19 – с CC, 69 – с CT и 14 – с TT генотипами. От Pro197Leu полиморфизма гена DIO1: с Pro/Pro – 18 больных, с Pro/Leu – 59, с Leu/Leu – 25 лиц.

Для оценки тиреоидного гомеостаза определяли уровни тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (cT_4) и свободного трийодтиронина (cT_3). Периферическую активность тиреоидных гормонов оценивали по вычислению коэффициента cT_3/cT_4 и суммарного тиреоидного индекса (СТИ) [2]. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента и коэффициента ранговой корреляции Пирсона с помощью программного комплекса Statistica 6.0 for Windows. Разницу считали статистически достоверной при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Сравнение распределения частот генотипов гена DIO1 показало, что C/T полиморфизм гена DIO1 ассоциирован с развитием нарушения обмена тиреоидных гормонов у обследуемых по сравнению с группой контроля ($P < 0,05$) (табл. 1) [1].

Обнаружено, что такие изменения обусловлены уменьшением частоты СС генотипа у лиц с МС по сравнению с группой контроля ($\chi^2 = 6,8$; $P < 0,05$), тогда как достоверной разницы между частотами СТ и ТТ генотипов в основной и контрольной группах не выявлено ($\chi^2 = 2,4$; $P > 0,05$ и $\chi^2 = 1,2$; $P > 0,05$).

Таблица 1. Распределение частот генотипов в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO1 у больных с метаболическим синдромом и у лиц контрольной группы

Частота генотипа	Больные с МС (n = 102)	Контроль (n = 97)	χ^2	P	СШ	0,95 % ДИ
Pro/Pro	0,186	0,412			0,33	0,17–0,62
Pro/Leu	0,676	0,526	13,26	< 0,001	1,89	1,06–3,35
Leu /Leu	0,137	0,062			2,41	0,89–6,56

Примечания: χ^2 – критерий Пирсона; СШ – соотношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

У лиц с СТ генотипом риск возникновения дисбаланса в обмене тиреоидных гормонов в 5,7 раза выше по сравнению с пациентами с генотипом СС ($P < 0,05$; СШ = 1,89; 0,95 % ДИ = 1,06–3,35; см. табл. 1), тогда как у лиц с ТТ генотипом риск развития данных нарушений оказался в 7,3 раза выше по сравнению с пациентами с СС генотипом ($P < 0,05$; СШ = 2,41; 0,95 % ДИ = 0,89–6,56; см. табл. 1).

Как видно из табл. 1, с увеличением количества Т-аллели в генотипе риск возникновения патологических процессов повышается, следовательно, носители «мутантной» Т-аллели имели более высокий риск нарушения тиреоидного гомеостаза по сравнению с носителями «дикой» С-аллели. Учитывая, что разность частот генотипов возникает преимущественно за счёт уменьшения количества лиц, гомозиготных по С-аллели, можем предположить, что С-аллель обладает протекторными свойствами и свидетельствует о роли С/Т полиморфизма в развитии тиреоидного дисбаланса.

Полиморфизм GPX1 связан со снижением активности ГП. Pro-аллель является «дикой», тогда как Leu – «мутантной». Наличие Leu-аллели приводит к снижению чувствительности GPX1 к стимулирующим факторам [13] и, по данным некоторых авторов, сопровождается снижением активности ГП в 6 раз [5].

При оценке распределения частот генотипов гена GPX1 нами установлено, что у больных с МС частота Pro/Pro генотипа достоверно ниже, чем в группе контроля ($\chi^2 = 7$; $P < 0,05$), тогда как достоверной разницы между частотами Pro/Leu и Leu/Leu генотипов в основной и контрольной группах не выявлено ($\chi^2 = 1,9$; $P > 0,05$ и $\chi^2 = 2,6$; $P > 0,05$) (табл. 2) [3].

Таблица 2. Распределение частот генотипов в зависимости от Pro197Leu полиморфизма гена GPX1 у больных с метаболическим синдромом и в контрольной группе

Частота генотипа	Больные с МС (n = 102)	Контроль (n = 97)	χ^2	P	СШ	0,95 % ДИ
Pro/Pro	0,176	0,402			0,32	0,17–0,61
Pro/Leu	0,578	0,454	12,91	< 0,002	1,65	0,94–2,9
Leu/Leu	0,245	0,144			1,92	0,93–3,97

Примечания: χ^2 – критерий Пирсона; СШ – соотношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

Pro/Leu и Leu/Leu варианты полиморфизма ассоциированы с увеличением риска нарушения окислительно-восстановительного гомеостаза у больных с МС по сравнению с группой здоровых.

У больных с Pro/Leu полиморфизмом риск нарушения активности GPX1 увеличивается в 5,2 раза ($P < 0,05$; СШ = 1,65; 0,95 % ДИ = 0,94–2,9; см. табл. 2), а у лиц с Leu/Leu – в 6 раз по сравнению с обследованными с Pro/Pro генотипом ($P < 0,05$; СШ = 1,92; 0,95 % ДИ = 0,93–3,97; см. табл. 2).

Следовательно, риск снижения активности GPX1 дозозависимо ассоциирован с наличием «мутантной» Leu-аллели, тогда как у гомозигот по «дикий» Pro-аллели риск возникновения данного нарушения был значительно ниже.

Изучены особенности метаболизма тиреоидных гормонов в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO1 (табл. 3) и Pro197Leu полиморфизма гена GPX1 (табл. 4).

Таблица 3. Характеристика показателей обмена тиреоидных гормонов у больных с метаболическим синдромом в зависимости от С/Т полиморфизма гена дейодиназы 1-го типа ($M \pm m$)

Показатель	Генотипы DIO1 ($n = 102$)			Контрольная группа ($n = 20$)
	CC	CT	TT	
ТТГ, мМО/л	2,930 \pm 0,232	2,690 \pm 0,156	2,650 \pm 0,204	2,080 \pm 0,152
cT ₄ , пмоль/л	17,280 \pm 2,345**/**	23,410 \pm 1,736*	25,830 \pm 2,058*	16,020 \pm 1,451
cT ₃ , пмоль/л	4,970 \pm 0,147**/**	4,100 \pm 0,038*	3,720 \pm 0,068	7,460 \pm 0,172
cT ₃ /cT ₄	0,289 \pm 0,017**/**	0,196 \pm 0,024**/**	0,162 \pm 0,037*	0,500 \pm 0,043
СТИ	227,89 \pm 14,18**/**	197,10 \pm 15,63*	182,51 \pm 17,84*	331,30 \pm 18,36

Примечания: n – количество наблюдений. *Достоверность различий по сравнению с контролем. **Достоверность различий по сравнению с лицами с СТ-генотипом. ***Достоверность различий по сравнению с лицами с ТТ-генотипом.

Таблица 4. Характеристика показателей обмена тиреоидных гормонов у больных с метаболическим синдромом в зависимости от Pro197Leu полиморфизма гена GPX1 ($M \pm m$)

Показатель	Генотипы GPX 1 ($n = 102$)			Контрольная группа ($n = 20$)
	Pro/Pro ($n = 18$)	Pro/Leu ($n = 59$)	Leu/Leu ($n = 25$)	
ТТГ, мМЕ/л	3,380 \pm 0,345*	3,080 \pm 0,254*	2,890 \pm 0,345*	2,080 \pm 0,152
cT ₄ , пмоль/л	17,600 \pm 1,345**/**	22,220 \pm 1,644*	23,690 \pm 2,346*	16,020 \pm 1,451
cT ₃ , пмоль/л	5,590 \pm 0,247**/**	4,180 \pm 0,135*	3,970 \pm 0,079*	7,460 \pm 0,172
cT ₃ /cT ₄	0,330 \pm 0,023**/**	0,190 \pm 0,019*	0,180 \pm 0,012*	0,510 \pm 0,043
СТИ	265,40 \pm 17,68**/**	200,90 \pm 21,43*	183,00 \pm 17,13*	331,30 \pm 18,36

Примечания: n – количество наблюдений. *Достоверность различий по сравнению с контролем. **Достоверность различий по сравнению с лицами с Pro/Leu-генотипом. ***Достоверность различий по сравнению с лицами с Leu/Leu-генотипом.

В группах лиц, являющихся носителями мутантных Т-аллели гена DIO1 и Leu-аллели гена GPX1, выявлены достоверно более выраженные изменения метаболизма тиреоидных гормонов, которые в нашем исследовании представлены в виде снижения уровня cT₃, соотношения cT₃/cT₄ и СТИ, увеличением уровня cT₄ и наиболее выражены в группе лиц, гомозиготных по этим аллелям.

Данные изменения можно объяснить тем, что на фоне абдоминального ожирения, которое сопровождается инсулино- (ИР) и лептинорезистентностью, активируются процессы, запускающие экспрессию провоспалительных цитокинов. В частности, у лиц с ИР, которая сопровождается гипергликемией и повышенной продукцией цитокинов, возникает оксидативный стресс. Накопление свободных радикалов наиболее выражено у носителей Leu-аллели гена GPX1, в связи с увеличением риска снижения активности ГП, активизируются факторы транскрипции, такие как NF- κ B, запуская таким образом процесс высвобождения провоспалительных цитокинов [7].

Провоспалительные цитокины, в свою очередь, снижают активность D1, что сопровождается снижением образования T₃ из T₄ на периферии с последующим развитием СЭП [14]. Это было подтверждено в наших предыдущих исследованиях, в которых установлено у больных с МС достоверное повышение уровня cT₄ на фоне снижения cT₃, соотношения cT₃/cT₄, что свидетельствует о развитии СЭП [4].

Выводы. 1. Среди больных с МС носители «мутантной» Т-аллели имели более высокий риск нарушения тиреоидного гомеостаза по сравнению с носителями «дикой» С-аллели, что свидетельствует о роли С/Т полиморфизма в развитии тиреоидного дисбаланса. 2. Риск снижения активности глутатионпероксидазы дозозависимо ассоциирован с «мутантной» Leu-аллелью, тогда как гомозиготы по «дикой» Pro-аллели имели значительно более низкий риск развития данного нарушения. 3. Носительство «мутантной» Т-аллели гена DIO1 и «мутантной» Leu-аллели гена GPX1 ассоциировано с увеличением уровня свободного тироксина, снижением свободного трийодтиронина, соотношения свободный трийодтиронин/свободный тироксин и суммарного тиреоидного индекса, что свидетельствует об угнетении периферической конверсии тиреоидных гормонов на фоне МС.

С п и с о к л и т е р а т у р ы

1. Абрамова Н. О., Пашковская Н. В. Особенности обмена тиреоидных гормонов в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO 1 у больных с артериальной гипертензией на фоне абдоминального ожирения // Журн. Гроднен. гос. мед. ун-та. – 2013. – Вып. 44, № 4. – С. 29–31.
2. Старкова Н. Т. Клиническая эндокринология. – М.: Медицина, 1991. – 512 с.
3. Abramova N. O., Pashkovska N. V. Effect of PRO/LEU polymorphism of the gene GPX1 on carbohydrate metabolism and anthropometric indices of patients with arterial hypertension against the background of abdominal obesity // Міжнарод. ендокрин. журн. – 2013. – Вып. 54, № 6. – С. 12–16.
4. Abramova N. O., Pashkovska N. V. Peculiarities of indices of thyroid homeostasis in patients with metabolic syndrome depending on body mass index // Ibid. – 2015. – Вып. 72, № 8. – С. 27–30.
5. Bastaki M., Huen K., Manzanillo P. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans // Pharmacogenet Genomics. – 2006. – Vol. 16. – P. 279–286.
6. De Oliveira Hiragi C., Miranda-Vilela A. L., Dulce Maria Sucena Rocha et al. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferases M1 and T1 gene polymorphisms in three Brazilian population groups // Genet. Mol. Biol. – 2011. – Vol. 34, N 1. – P. 11–18.
7. Fabre E. E., Raynaud-Simon A., Golmard J. L. et al. Gene polymorphisms of oxidative stress enzymes: prediction of elderly renutrition // Am. J. Clin. Nutr. – 2008. – Vol. 87, N 5. – P. 1504–1512.
8. Jan de Jong F., Peeters R. P., den Heijer T. et al. The Association of Polymorphisms in the Type 1 and 2 Deiodinase Genes with Circulating Thyroid Hormone Parameters and Atrophy of the Medial Temporal Lobe // The J. of Clinical Endocrinology & Metabolism February. – 2007. – Vol. 92, N 2. – P. 636–640.
9. Lu J., Holmgren A. Selenoproteins // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 9, N 2. – P. 723–737.
10. Maia A. L., Goemann I. M., Meyer E. L. et al. Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease // J. Endocrinol. – 2011. – Vol. 209, N 3. – P. 283–297.
11. Panicker V., Cluett C., Shields B. et al. A Common Variation in Deiodinase 1 Gene DIO1 Is Associated with the Relative Levels of Free Thyroxine and Triiodothyronine // The J. of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2008. – Vol. 93, N 8. – P. 3075–3081.
12. Peeters R., van den Beld A. W., van Toor H. et al. A Polymorphism in Type I Deiodinase Is Associated with Circulating Free Insulin-Like Growth Factor I Levels and Body Composition in Humans // Eur. J. Endocrinol. – 2006. – Vol. 155. – P. 655–662.
13. Skowrońska-Jóźwiak E. The effect of Selenium on thyroid physiology and pathology // Thyroid Res. – 2015. – Vol. 8, N 1. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4480960/>
14. Wajner S. M., Goemann L. M., Bueno A. L. IL-6 promotes nonthyroidal illness syndrome by blocking thyroxine activation while promoting thyroid hormone inactivation in human cells // The J. of Clin. Investigation. – 2011. – Vol. 121, N 5. – P. 1834–1845.

ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ ЗАЛЕЖНО ВІД С/Т ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА DIO 1 І PRO197LEU ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА GPX 1 У ХВОРИХ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Н. О. Абрамова, Н. В. Пашковська (Чернівці)

Тиреоїдні гормони беруть участь у регуляції багатьох фізіологічних процесів в організмі, тому вивчення процесу їх синтезу і його порушень особливо важливе. Нами досліджено С/Т

поліморфізм гена DIO1 і Pro197Leu поліморфізм гена GPX1 у 102 хворих з метаболічним синдромом на фоні абдомінального ожиріння і у 97 практично здорових. При аналізі отриманих даних виявлено, що носійство Т-алеля гена DIO1 і Leu-алеля гена GPX1 асоційоване із зниженням продукування вТ₃, збільшенням рівня вТ₄, зниженням співвідношення вТ₃/вТ₄ і сумарного тиреоїдного індексу. Таким чином, носійство Т-алелі гена DIO1 і Leu-алелі гена GPX1 пов'язане з порушенням метаболізму тиреоїдних гормонів.

Ключові слова: С/Т поліморфізм гена DIO1, Pro197Leu поліморфізм гена GPX1, метаболічний синдром, обмін тиреоїдних гормонів.

PECULIARITIES OF THYROID HORMONES METABOLISM DEPENDING
ON THE C/T POLYMORPHISM IN THE DIO 1 GENE AND PRO197LEU
POLYMORPHISM IN THE GPX1 GENE IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

N. O. Abramova, N. V. Pashkovska (Chernivtsi, Ukraine)

Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University»

Thyroid hormones are involved in the regulation of many physiological processes in the body. Therefore, it is important to study the process of their synthesis and its disorders. We have studied C/T polymorphism of the DIO1 gene and Pro197Leu polymorphism of the GPX1 gene in 102 patients with metabolic syndrome and 97 healthy individuals. Presence of T allele of the gene DIO1 and Leu allele of the GPX1 gene in genotype is associated with inhibition of peripheral conversion of thyroid hormones, which leads to reduced fT₃ production, increased levels fT₄, reduction of fT₃/fT₄ ratio and total thyroid index. Thus, presence of the T allele of the gene DIO 1 and Leu allele of the gene GPX1 in genotype is associated with metabolic disorders of the thyroid hormones in patients with metabolic syndrome.

Key words: C/T polymorphism in the gene DIO1, Pro197Leu polymorphism in the GPX1 gene, metabolic syndrome, metabolism of thyroid hormones.