

УДК 616-008.9:616.441]-092-08

## ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ С/Т ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DIO 1 У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ НА ФОНЕ АБДОМИНАЛЬНОГО ОЖИРЕНИЯ

Абрамова Н.О., Пашковская Н.В.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

*Около 80% активного тиреоидного гормона трийодтиронина образуется за пределами щитовидной железы с помощью ферментов дейодиназ. Материалы и методы. Нами исследовано С/Т полиморфизм гена DIO 1 у 102 пациентов с артериальной гипертензией на фоне абдоминального ожирения и 97 практически здоровых лиц.*

*Результаты исследования. При анализе полученных данных мы обнаружили рост риска нарушения активности DIO 1 у лиц с СТ и ТТ вариантами полиморфизма по сравнению с гомозиготами по «дикому» аллелю в 5,7 и 7,3 раза. Носительство Т-аллеля ассоциировано с подавлением периферической конверсии тиреоидных гормонов со снижением продукции  $cT_3$ , ростом уровня  $cT_4$ , тиреоидного индекса (ТИ), снижением соотношения  $cT_3/cT_4$ , ТТГ/ $cT_4$  и суммарного тиреоидного индекса (СТИ).*

*Заключение. Таким образом, С-аллель обладает протекторными свойствами по отношению к снижению активности дейодиназы 1-го типа, в то время как носительство Т-аллеля связано с угнетением периферической конверсии тиреоидных гормонов.*

**Ключевые слова:** С/Т полиморфизм гена DIO 1, артериальная гипертензия, абдоминальное ожирение, обмен тиреоидных гормонов.

Тиреоидные гормоны принимают участие в регуляции многих физиологических процессов в организме. Поэтому изучение процесса их синтеза и нарушений является крайне важным. Дейодиназа 1-го типа (D1) является одной из семейства дейодиназ, регулирующих активность тиреоидных гормонов путем 5'-монойодирования тироксина ( $T_4$ ) с образованием в 5 раз более активного трийодтиронина ( $T_3$ ) в печени, почках, щитовидной железе, также транскрипты DIO1 обнаружены и в гипофизе, кишечнике, плаценте и гонадах [6].

Регуляция синтеза D1 осуществляется геном DIO1, находящимся в P32 - P33 участке 1-й хромосомы. В активный центр D1 входит селеноцистеин, для трансляции которого используется UGA кодон, который в обычных условиях выполняет роль стоп-кодона. Только при наличии в мРНК Sec insertion sequence (SECIS) или элемента трансляции Sec в 3' - нетранслируемом участке ниже UGA кодона, UGA кодон используется для трансляции селеноцистеина. SECIS взаимодействует с Sec - специфическим фактором трансляции (EFSec) через SECIS - связывающий протеин 2 (SBP 2), обеспечивая присоединение тРНК, которая содержит селеноцистеин к UGA кодону мРНК и к рибосоме с образованием комплекса мРНК - аминокислот - тРНК - рибосома [5]. Следовательно, только при наличии SECIS и специфических факторов транскрипции возможен синтез D1, поэтому важным является изучение полиморфизма в этой области и вокруг нее [3, 6, 7, 8]. Мало исследованным остается вопрос зависимости тиреоидного обеспечения у пациентов с метаболическим синдромом (МС) от полиморфизма DIO1. В нашем исследовании для изучения этой зависимости мы выбрали С/Т полиморфизм в позиции 785 гена DIO1 комплементарной ДНК. Мутации с заменой одной аминокислоты на другую являются функциональными миссенс - полиморфизмами, которые могут сопровождаться изменением заряда белковой молекулы, влиять на активность, родство с субстратом и специфичность [9]. R. Peeters et al. обнаружили, что наличие «дикого» Т-аллеля в дозозависимой манере была связана с возрастанием количества обратного  $T_3$  ( $rT_3$ ), увеличением соотношения  $rT_3/T_4$  и снижением соотношения  $T_3/rT_3$  [8]. Аналогичные результаты получили Frank Jan de Jong et al [3].

### Цель исследования

Исследовать влияние С/Т полиморфизма гена DIO1 на показатели тиреоидного гомеостаза у пациентов с артериальной гипертензией на фоне абдоминального ожирения.

### Материалы и методы

У 102 пациентов и 97 практически здоровых лиц было исследовано С/Т полиморфизм гена DIO1 путем выделения геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови, после чего на программируемом амплификаторе «Amplify-4L» («Biosom», Москва) при индивидуальной температурной реакции осуществлялась амплификация 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. Для приготовления проб ПЦР пользовались набором «АмплиСенс -200-1» (ФГУН ЦНИИЭ, Россия). Дискриминацию аллелей гена DIO1 проводили с помощью специфической эндонуклеазы рестрикции Bcl I, фирмы «СибЭнЗайм» (Россия). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 3% агарозном геле в присутствии трис-боратного буфера, концентрированного с бромидом этидия. Фрагменты визуализировали с помощью трансиллюминатора в присутствии маркера молекулярных масс 100-1000 bp («Fermentas<sup>®</sup>», США).

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

С целью изучения зависимости обмена тиреоидных гормонов в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO 1 мы разделили пациентов на группы следующим образом: 19 человек с СС, 69 с СТ и 14 с ТТ генотипами, группу сравнения составили 20 практически здоровых лиц. Для оценки тиреоидного гомеостаза определялись уровни тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина ( $cT_4$ ) и свободного трийодтиронина ( $cT_3$ ). Для изучения функционального состояния системы гипотиз - щитовидная железа вычисляли коэффициенты  $cT_3/cT_4$ , ТТГ/ $cT_4$ , ТТГ/ $cT_3$ , тиреоидных индекс (ТИ) [1]. Перифе-

рическую активность тиреоидных гормонов оценивали с помощью суммарного тиреоидного индекса (СТИ) [2]. Наличие аутоиммунных заболеваний щитовидной железы диагностировали по содержанию в сыворотке крови антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) и антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ).

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием t-критерия Стьюдента и коэффициента ранговой корреляции Пирсона с помощью программного комплекса Statistica 6.0 for Windows. Разницу считали статистически значимой при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение**

Сравнение распределения частот генотипов гена DIO1 показало, что С/Т полиморфизм гена DIO1 ассоциирован с развитием нарушения обмена тиреоидных гормонов у обследуемых пациентов по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Нами обнаружено, что такие изменения обусловлены уменьшением частоты СС генотипа в группе лиц с артериальной гипертензией на фоне абдоминального ожирения по сравнению с группой контроля ( $X^2 = 6,8, p < 0,05$ ), тогда как достоверной разницы между частотами СТ и ТТ генотипов в основной и контрольной группах не выявлено ( $X^2 = 2,4, p < 0,05$  и  $X^2 = 1,2, p < 0,05$ ).

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

Как видно из табл. 1, с увеличением количества Т-аллеля в генотипе риск возникновения патологических процессов возрастает, следовательно, носители «мутантного» Т-аллеля имели более высокий риск нарушений тиреоидного гомеостаза по сравнению с носителями «дикого» С-аллеля. Учитывая, что разность частот генотипов возникает преимущественно за счет снижения количества лиц гомозиготных по С-аллелю, можно предположить, что С-аллель обладает протекторными свойствами и свидетельствует о роли С/Т полиморфизма в развитии тиреоидного дисбаланса.

**Таблица 1-** Распределение частот генотипов в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO1 у пациентов с артериальной гипертензией и сопутствующим абдоминальным ожирением, и в контрольной группе

Генотипы	Случаи	Контроли	$X^2$	p	СШ	0,95% ДИ
	102	97				
Генотип СС	0,186	0,412	13,26	0,001	0,33	0,17-0,62
Генотип СТ	0,676	0,526			1,89	1,06-3,35
Генотип ТТ	0,137	0,062			2,41	0,89-6,56

Примечание:  $X^2$  - критерий Пирсона, СШ - соотношение шансов, ДИ - доверительный интервал

Изучены особенности метаболизма тиреоидных гормонов в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO1 (табл. 2).

Не выявлено достоверной разницы содержания ТТГ в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO1.

У лиц с СС генотипом установлен более низкий уровень  $cT_4$  по сравнению с лицами с СТ и ТТ генотипом на 35,5% и 49,5%, соответственно ( $p < 0,05$ ). Содержание  $cT_4$  оказалось статистически значимо выше в группах с СТ и ТТ генотипом по отношению к группе здоровых лиц на

**Таблица 2 -** Характеристика показателей обмена тиреоидных гормонов у пациентов с артериальной гипертензией и сопутствующим абдоминальным ожирением в зависимости от С/Т полиморфизма гена дейодиназы 1-го типа

Показатель	Генотипы DIO1, n=102			Контрольная группа n=20
	СС	СТ	ТТ	
ТТГ, мМО/л	2,93±0,232 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	2,69±0,156 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	2,65±0,204 $p_1 > 0,05$	2,08±0,152
$cT_4$ , пмоль/л	17,28±2,345 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	23,41±1,736 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	25,83±2,058 $p_1 < 0,05$	16,02±1,451
$cT_3$ , пмоль/л	4,97±0,147 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	4,10±0,038 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	3,72±0,068 $p_1 < 0,05$	7,46±0,172
$cT_3/cT_4$	0,289±0,017 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,196±0,024 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,162±0,037 $p_1 < 0,05$	0,50±0,043
ТТГ/ $cT_3$	0,589±0,024 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	0,684±0,023 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,734±0,016 $p_1 < 0,05$	0,25±0,022
ТТГ/ $cT_4$	0,172±0,014 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,132±0,026 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,117±0,018 $p_1 > 0,05$	0,14±0,012
ТИ	7,99±0,736 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	10,74±1,027 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	11,37±1,264 $p_1 > 0,05$	13,08±0,521
СТИ	227,89±14,18 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	197,10±15,63 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	182,51±17,84 $p_1 < 0,05$	331,3±18,36

Примечания: n - количество наблюдений;  $p_1$  - достоверность изменений относительно контроля;  $p_2$  - достоверность изменений относительно группы с СТ-генотипом;  $p_3$  - достоверность изменений относительно группы с ТТ генотипом

46,1 % и 61,2 % соответственно ( $p < 0,05$ ).

Отмечено снижение уровня  $cT_3$  в группах лиц с СТ и ТТ генотипами по отношению к лицам с СС генотипом на 21,2 % и 33,6 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Содержание  $cT_3$  было ниже у лиц с СТ и ТТ генотипом по отношению к группе контроля в 1,8 раза и в 2 раза, соответственно ( $p < 0,05$ ).

Поскольку уровни тиреоидных гормонов зависят не только от активности дейодиназ, но и от других факторов, таких как функционирование оси гипоталамус - гипофиз - щитовидная железа и йодтиронинсвязывающей способности плазмы, нами исследованы изменения показателей, отражающих функционирование данной оси и периферическую конверсию тиреоидных гормонов.

Не выявлено достоверных изменений соотношения ТТГ/ $cT_3$  в зависимости от распределения С/Т полиморфизма гена DIO1. Однако данный показатель оказался выше в группах лиц с СС СТ и ТТ генотипами по отношению к группе контроля в 2,36, 2,74 и 2,94 раза, соответственно ( $p < 0,05$ ).

Соотношение ТТГ/ $cT_4$  значимо ниже в группах лиц с генотипом СТ и ТТ по отношению к группе лиц с СС генотипом на 30,3% и 47,0%, соответственно ( $p < 0,05$ ).

Значение ТИ в группе лиц с СС генотипом оказалось достоверно ниже, чем в группе контроля и лицами с генотипом СТ и ТТ на 63,7 %, 34,4 % и 42,3 % соответственно ( $p < 0,05$ ).

Отмечено снижение СТИ у всех пациентов с МС по сравнению с группой контроля, а именно: у лиц с СС генотипом на 45,4 %, СТ генотипом на 68,1 % и с ТТ генотипом на 81,5 % соответственно ( $p < 0,05$ ).

В зависимости от распределения С/Т полиморфизма

гена DIO1 выявлено статистически значимое снижение СТИ в группах лиц с СТ и ТТ генотипами по сравнению с лицами с СС генотипом на 15,6 % и 24,9 %, соответственно ( $p < 0,05$ ).

Итак, носительство «мутантного» аллеля Т связано со снижением уровня  $cT_3$ , возрастанием  $cT_4$ , ТИ, снижением соотношения  $cT_3/cT_4$ , ТТГ/ $cT_4$ , и СТИ.

### Выводы

1. Среди пациентов артериальной гипертонией на

### Литература

1. Кандор В.И. Синтез, секреция и метаболизм тиреоидных гормонов: Клиническая эндокринология / В.И. Кандор; под ред. Н.Т. Старковой. — СПб.: Нитер, 2002. — С. 122 – 127.
2. Старкова Н.Т. Клиническая эндокринология / Н.Т. Старкова. — М.: Медицина, 1991. — С. 151 – 153.
3. Jan de Jong F. The Association of Polymorphisms in the Type 1 and 2 Deiodinase Genes with Circulating Thyroid Hormone Parameters and Atrophy of the Medial Temporal Lobe / F. Jan de Jong, R. P. Peeters, T. den Heijer [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism February.– 2007.– Vol. 92, № 2.– P. 636 – 640.
4. Jan de Jong F. The Association of Polymorphisms in the Type 1 and 2 Deiodinase Genes with Circulating Thyroid Hormone Parameters and Atrophy of the Medial Temporal Lobe/F. Jan de Jong, R. P. Peeters, T. den Heijer [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism February.– 2007/ – Vol. 92, № 2.– P. 636 – 640.
5. Kohrle J. Selenium, the thyroid, and the endocrine system/ J. Kohrle, F. Jakob, B. Contempri B. [et al.] // Endocr Rev. – 2005. – Vol.26, № 7. – P. 944-984.
6. Maia A. L. Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease/A.L. Maia, I.M. Goemann, E.L. Meyer [et al.]// J Endocrinol. – 2011. – Vol. 209, № 3. – P. 283-97.
7. Panicker V. A Common Variation in Deiodinase 1 Gene DIO1 Is Associated with the Relative Levels of Free Thyroxine and Triiodothyronine// V. Panicker, C. Cluett, B. Shields [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.– 2008. – Vol. 93, № 8. – P. 3075 – 3081.
8. Peeters R. A Polymorphism in Type I Deiodinase Is Associated with Circulating Free Insulin-Like Growth Factor I Levels and Body Composition in Humans/R. P. Peeters, A. W. van den Beld, H. van Toor[et al.] // Eur J Endocrinol. – 2006. – №155. – P. 655 – 662.).
9. Zeikova T.V. The glutathione peroxidase 1 (GPX1) single nucleotide polymorphism pro197leu: association with the span and coronary artery disease/ T.V. Zeikova //Mol. Biol. (Msk.).–2012.– Vol.46, №3. – P.481–486.

фоне абдоминального ожирения носители «мутантного» Т-аллеля имели более высокий риск нарушений тиреоидного гомеостаза по сравнению с носителями «дикого» С-аллеля, свидетельствующего о роли С/Т полиморфизма в развитии тиреоидного дисбаланса.

2. Наличие «мутантного» аллеля Т связано со снижением уровня  $cT_3$ , ростом  $cT_4$ , ТИ, снижением соотношения соотношения  $cT_3/cT_4$ , ТТГ/ $cT_4$ , и СТИ, что свидетельствует об угнетении периферической конверсии тиреоидных гормонов.

### Literature

1. Kandor V.I. Sintez, sekrecija i metabolizm tireoidnyh gormonov: Klinicheskaja jendokrinologija / V.I. Kandor; pod red. N.T. Starkovoj. — SPb.: Niter, 2002. — S. 122 – 127.
2. Starkova N.T. Klinicheskaja jendokrinologija / N.T. Starkova. — M.: Medicina, 1991. — S. 151 – 153.
3. Jan de Jong F. The Association of Polymorphisms in the Type 1 and 2 Deiodinase Genes with Circulating Thyroid Hormone Parameters and Atrophy of the Medial Temporal Lobe / F. Jan de Jong, R. P. Peeters, T. den Heijer [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism February.– 2007.– Vol. 92, № 2.– P. 636 – 640.
4. Jan de Jong F. The Association of Polymorphisms in the Type 1 and 2 Deiodinase Genes with Circulating Thyroid Hormone Parameters and Atrophy of the Medial Temporal Lobe/F. Jan de Jong, R. P. Peeters, T. den Heijer [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism February.– 2007/ – Vol. 92, № 2.– P. 636 – 640.
5. Kohrle J. Selenium, the thyroid, and the endocrine system/ J. Kohrle, F. Jakob, B. Contempri B. [et al.] // Endocr Rev. – 2005. – Vol.26, № 7. – P. 944-984.
6. Maia A. L. Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease / A.L. Maia, I.M. Goemann, E.L. Meyer [et al.]// J Endocrinol. – 2011. – Vol. 209, № 3. – P. 283-97.
7. Panicker V. A Common Variation in Deiodinase 1 Gene DIO1 Is Associated with the Relative Levels of Free Thyroxine and Triiodothyronine// V. Panicker, C. Cluett, B. Shields [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.– 2008. – Vol. 93, № 8. – P. 3075 – 3081.
8. Peeters R. A Polymorphism in Type I Deiodinase Is Associated with Circulating Free Insulin-Like Growth Factor I Levels and Body Composition in Humans/R. P. Peeters, A. W. van den Beld, H. van Toor[et al.] // Eur J Endocrinol. – 2006. – №155. – P. 655 – 662.).
9. Zeikova T.V. The glutathione peroxidase 1 (GPX1) single nucleotide polymorphism pro197leu: association with the span and coronary artery disease/ T.V. Zeikova //Mol. Biol. (Msk.).–2012.– Vol.46, №3. – P.481–486.

## PECULIARITIES OF THYROID HORMONES METABOLISM DEPENDING ON THE C/T POLYMORPHISM OF THE DIO 1 GENE IN PATIENTS WITH HYPERTENSION AGAINST A BACKGROUND OF ABDOMINAL OBESITY

Abramova N.O., Pashkovskaya N.V.

Educational Establishment “Bukovinian State Medical University”, Chernivtsi, Ukraine

*About 80% of the active thyroid hormone triiodothyronine is produced outside the thyroid gland by means of special enzymes deiodinases. We have studied C/T polymorphism of the gene DIO 1 in 102 hypertensive patients with concomitant abdominal obesity and 97 healthy individuals.*

*We have found that patients with CT and TT genotypes have 5,7 and 7,3 times higher risk of violation of DIO 1 activity comparing with patients with CC genotype. Presence of T allele in genotype is associated with inhibition of peripheral conversion of thyroid hormones, which leads to reduced  $ft3$  production, increased levels of  $ft4$ , reduction of  $ft3/ft4$  ratio,  $TTH/ft4$ , thyroid index (TI) and total thyroid index (TTI).*

*Thus, C-allele has protective properties to reduce deiodinase type 1 activity, whilst T-allele presence is associated with the inhibition of peripheral conversion of thyroid hormones.*

**Key words.** C/T polymorphism of the gene DIO 1, hypertension, abdominal obesity, metabolism of thyroid hormones.

Адрес для корреспонденции: e-mail: nataloka84@rambler.ru

Поступила 12.11.2013