Молекулярные маркеры СД2 при ожирении: экспрессионный профиль генов, ключевых молекул генов воспалительного ответа в мононуклеарных клетках периферической крови

Кочетова О.В.¹, Ахмадишина Л.З.¹, Авзалетдинова Д.Ш.², Шангареева З.А.², Корытина Г.Ф.¹

1 — Институт биохимии и генетики ФГБНУ федерального исследовательского центра Российской академии наук
450054, г. Уфа, Проспект Октября, 71

2 — Башкирский государственный медицинский университет
450001, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Сахарный диабет 2 типа (СД2) — метаболическое многофакторное, генетически обусловленное, опасное для жизни заболевание. Развитие осложнений связано с хроническим иммуновоспалительным процессом и с образованием иммунных комплексов. Целью исследования явился анализ профиля экспрессии комплекса функционально взаимосвязанных генов (цитокинов, хемокинов и другие ключевые молекулы воспалительного ответа) в мононуклеарах периферической крови у пациентов с СД2 (N=10) и в контрольной группе (N=10). Пациенты и контроль были подобраны по полу, возрасту, принадлежали к этнической группе татар. Профиль экспрессии 84 генов иммунного ответа исследовали методом ОТ-ПЦР на приборе BioRad CFX96TM набором RT2 Profiler PCR Arrays «Human Cytokines & Chemokines PCR Array» (Qiagen). Значимые изменения экспрессии ($p < 0,05$) в общей группе больных СД2 по сравнению с контролем были установлены для генов *FASLG*, *IL16*, *OSM*, *CSF1*, *CXCL16*, *BMP6*. При этом профиль экспрессии этих генов у больных СД2 характеризуется повышением уровня от 2,1 до 6,7 раз по сравнению со здоровыми индивидами. Профиль экспрессии генов *CXCL8*, *CXCL1*, *CXCL2*, *CXCL10*, *CCL2*, *IL1RN* характеризуется снижением уровня от 2,1 до 8,78 раз по сравнению со здоровыми индивидами. Значимые статистические различия при снижении экспрессии были получены для генов *IL1RN* (fold-change (FCh)=-3,31, $p=0,013$), *CXCL1* (FCh=-2,74, $p=0,027$), *CXCL2* (FCh=-2,66, $p=0,038$). Наиболее значимое повышение транскрипционной активности было показано для генов *IL16* (FCh=6,72, $p=0,037$) и *FASLG* (FCh=2,83 $p=0,034$) среди больных СД2 по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, системное воспаление, профиль экспрессии, молекулярные маркеры

Для цитирования: Кочетова О.В., Ахмадишина Л.З., Авзалетдинова Д.Ш., Шангареева З.А., Корытина Г.Ф. Молекулярные маркеры СД2 при ожирении: экспрессионный профиль генов, ключевых молекул генов воспалительного ответа в мононуклеарных клетках периферической крови. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 92-94.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.92-94

Автор для корреспонденции: Кочетова О.В., e-mail: olga_mk78@mail.ru

Финансирование. Исследование частично финансировалось Российским фондом фундаментальных исследований (№20-013-00261) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации НИРН № АААА-А16-116020350031-4; биологический материал (ДНК) для исследования взят из коллекции «Коллекция биологических материалов человека ИБГ УНЦ РАН», поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение №007-030164/2).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Molecular markers of T2DM in obesity: expression profile of inflammatory response genes in peripheral blood mononuclear cells

Kochetova O. B.¹, Akhmadishina L. Z.¹, Avzaletdinova D. Sh.², Shangareeva Z. A.², Korytina G. F.¹

1 — Institute of Biochemistry and Genetics of the Federal State Budget Scientific Institution
of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences
Oktober ave., 71, Ufa 450098, Russia

2 — Bashkir State Medical University
Lenin st., 3, 450001, Ufa, Russia

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a metabolic multifactorial, genetically determined, life-threatening disease. The development of complications is associated with a chronic immuno-inflammatory process and with the formation of immune complexes. The aim of the study was to analyze the expression profile of a complex of functionally interconnected genes (cytokines, chemokines, and other key molecules of the inflammatory response) in peripheral blood mononuclear cells in patients with T2DM (N = 10) and in the control group (N = 10). Patients and controls were matched by gender, age, and belonged to the Tatars ethnic group. The

expression profile of 84 immune response genes was studied by OT-PCR on a BioRad CFX96TM instrument using the Human Cytokines & Chemokines PCR Array RT2 Profiler PCR Arrays kit (Qiagen). Significant changes in expression ($p < 0.05$) in the general group of patients with T2DM compared with the control were found for the *FASLG*, *IL16*, *OSM*, *CSF1*, *CXCL16*, *BMP6* genes. Moreover, the expression profile of these genes in patients with type 2 diabetes is characterized by an increase in the level from 2.1 to 6.7 times in comparison with healthy individuals. The gene expression profile of *CXCL8*, *CXCL1*, *CXCL2*, *CXCL10*, *CCL2*, *IL1RN* is characterized by a decrease in the level from 2.1 to 8.78 times in comparison with healthy individuals. Significant statistical differences with a decrease in expression were obtained for the genes *IL1RN* (fold-change (FCh) = -3.31, $p = 0.013$), *CXCL1* (FCh = -2.74, $p = 0.027$), *CXCL2* (FCh = -2.66, $p = 0.038$). The most significant increase in transcriptional activity was shown for the genes *IL16* (FCh = 6.72, $p = 0.037$) and *FASLG* (FCh = 2.83 $p = 0.034$) among patients with type 2 diabetes compared with the control group.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, systemic inflammation, expression profile, molecular markers.

For citation: Kochetova O. B., Akhmadishina L.Z., Avzaletdinova D.Sh., Shangareeva Z. A., Korytina G.F. Molecular markers of T2DM in obesity: expression profile of inflammatory response genes in peripheral blood mononuclear cells. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 92-94. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.92-94

Corresponding author: Kochetova O.V., e-mail: olga_mk78@mail.ru

Funding. The study was partially funded by the Russian Foundation for Basic Research (No. 20-013-00261) and the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation NIR No. AAAA-A16-116020350031-4; biological material (DNA) for research was taken from the collection "Collection of human biological materials of the IBG UC RAS" supported by the program of bioresource collections of the FANO of Russia (agreement No. 007-030164 / 2).

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.05.2020

Сахарный диабет 2 типа (СД2) — метаболическое многофакторное, генетически обусловленное, опасное для жизни заболевание. Характеризуется хронической гипергликемией, приводит к серьезным медицинским, психосоциальным, физическим и экономическим последствиям. Известно, что одним из факторов СД2 является ожирение [1,2]. Жировая ткань является местом образования фактора, который ингибирует действие инсулина. Показано, что жировая ткань играет роль в развитии механизмов воспаления, стимулируя синтез провоспалительных цитокинов [3], которые, в свою очередь, способствуют развитию инсулинорезистентности. Развитие осложнений СД2 связано с хроническим иммуновоспалительным процессом и с образованием иммунных комплексов [4].

Цель — провести сравнительный анализ профиля экспрессии комплекса функционально взаимосвязанных генов, кодирующих цитокины, хемокины и другие ключевые молекулы воспалительного ответа в мононуклеарах периферической крови (ПВМС) у пациентов с СД2 (N=10) и в контрольной группе (N=10).

Материалы и методы

Пациенты и контроль были подобраны по полу, возрасту, принадлежали к этнической группе татар. Пациенты имели индекс массы тела (ИМТ) более 29 кг/м². Контрольная группа имела ИМТ менее 25 кг/м².

Профиль экспрессии 84 генов иммунного ответа исследовали методом ОТ-ПЦР на приборе BioRad

CFX96TM набором RT2 Profiler PCR Arrays «Human Cytokines & Chemokines PCR Array» (Qiagen). Приготовление компонентов для проведения реакции проводили согласно протоколу производителя (RT2 Profiler PCR Array Handbook, Qiagen, www.qiagen.com). Определение относительного уровня мРНК исследуемых генов и другие статистические расчеты проводили с использованием облачного приложения на сайте производителя (www.qiagen.com).

Результаты

Значимые изменения экспрессии ($p < 0,05$) в общей группе больных СД2 по сравнению с контролем были установлены для генов *FASLG*, *IL16*, *OSM*, *CSF1*, *CXCL16*, *BMP6*. При этом профиль экспрессии этих генов у больных СД2 характеризуется повышением уровня от 2,1 до 6,7 раз по сравнению со здоровыми индивидами. Профиль экспрессии генов *CXCL8*, *CXCL1*, *CXCL2*, *CXCL10*, *CCL2*, *IL1RN* характеризуется снижением уровня от 2,1 до 8,78 раз по сравнению со здоровыми индивидами. Наиболее значимые статистические различия при снижении экспрессии были получены для генов *IL1RN* (антагонист рецептора интерлейкина 1) (fold-change (FCh)=-3,31, $p=0.013$), *CXCL1* (хемокин семейства CXC) (FCh=-2,74, $p=0,027$), *CXCL2* (макрофагальный воспалительный белок 2-альфа, хемокин) (FCh=-2,66, $p=0,038$). Наиболее значимое повышение транскрипционной активности было показано для генов *IL16* (провоспалительный цитокин) (FCh= 6,72, $p=0,037$) и *FASLG* (ген FAS сигнального пути, член семейства *TNF*) (FCh=2,83 $p=0,034$) среди

больных СД2 по сравнению с контрольной группой. Уровень экспрессии гена *TNF* среди больных был повышен в 1,8 раза, однако различия не достигли уровня статистической значимости ($p=0,08$).

Выводы

В проведенном исследовании была показана дифференциальная экспрессия генов иммунного ответа в группах больных СД2, страдающих ожирением, и здорового контроля без ожирения. Было определено снижение уровня экспрессии генов хемокинов, в сочетании с увеличением экспрессии провоспалительных цитокинов, гена семейства *TNF*, в группе больных СД2 с сопутствующим ожирением. Известно, что повышенный уровень *TNF* непосредственно увеличивает проницаемость эндотелия и разрушает эндотелиальный гликокаликс, что способствует формированию осложнений СД2 [5]. Следующим этапом работы бу-

дет выявление дифференцированной экспрессии генов в зависимости от осложнений СД2. Выявленные изменения могут служить чувствительным маркером и предметом для дальнейших исследований молекулярных основ патогенеза СД2.

Литература/References

1. Scott L.J., Mohlke K.L., Bonnycastle L.L., et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science*. 2007; 316 (5829): 1341–1345. doi:10.1126/science.1142382
2. Calle M.C., Fernandez M.L. Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Metab*. 2012; 38 (3):183–191. doi:10.1016/j.diabet.2011.11.006
3. Wisse B.E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol*. 2004; 15 (11):2792–2800. doi:10.1097/01.ASN.0000141966.69934.21
4. Laakso M. Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999; 48 (5): 937–942. doi:10.2337/diabetes.48.5.937
5. Eguchi K., Nagai R. Islet inflammation in type 2 diabetes and physiology. *J Clin Invest*. 2017;127(1):14–23. doi:10.1172/JCI88877