

## Ассоциация Полиморфных Маркеров Leu28Pro Гена ApoE И Pro12Ala Гена Pparg2 При Диабетической Нефропатии У Больных Сд 2 Типа

1. Жаббаров О. О.
2. Умарова З. Ф.
3. Турсунова Л. Д.
4. Нодирова Ю. И.
5. Сайдалиев Р. С.
6. Жуманазаров С. Б.
7. Хужаниязова Н. К.

Received 25<sup>th</sup> Dec 2022,  
Accepted 26<sup>th</sup> Jan 2023,  
Online 3<sup>rd</sup> Feb 2023

<sup>1,2,3,4,5,6</sup> Ташкентская медицинская академия, Чиланзарский техникум общественного здравоохранения

<sup>7</sup> имени Абу Али ибн Сина Республиканский специализированный научно-практический

<sup>6</sup> медицинский центр кардиологии

**Резюме:** В этой статье представлены результаты исследования 129 пациентов с диабетом 2-типа и 110 здоровых людей, чтобы определить, связаны ли полиморфные маркеры Leu28Pro гена APOE и Pro12Ala гена PPARG2 с развитием диабетической нефропатии (ДН). Пациенты в основной группе: 65 пациентов с длительностью заболевания до 10 лет, без диабетической нефропатии (33 пациента) и с диабетической нефропатии (32 пациента), 64 пациентами - с диабетом, продолжающимся более 10-20 лет, с без диабетической нефропатии (31 пациента) и диабетической нефропатии (33 пациента). Генотипирование проводилось методом полимеразной цепной реакции. Исследование показало, что ассоциацию аллеля Pro и генотип Leu/Pro гена APOE и аллеля Ala и гетерозиготный генотип Pro/Ala гена PPARG2 играют значительный роль при развитии диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом 2-го типа в исследуемой узбекской нации.

**Ключевые слова:** ген, полиморфизм, аллел, генотип, диабетическая нефропатия, сахарный диабет.

**Введение.** Диабетическая нефропатия (ДН) развивается у 13-15% лиц в общей популяции и гораздо чаще - до 40-50% – в группах риска, к которым относятся пациенты с СД 2-типа [2]. По прогнозам Международной диабетической федерации, количество больных СД в мире к 2035 г. увеличится до 587 млн человек, из них 95% - пациенты с СД2 [1].

Диабетическая нефропатия - микрососудистое осложнение сахарного диабета, развитие которого значительно ухудшает течение и дальнейший прогноз заболевания. При ДН наблюдается поражение мелких кровеносных сосудов фильтрующего аппарата почек,

приводящее в дальнейшем к увеличению количества белка, выделяющегося с мочой (протеинурии) [6,5].

Развитие молекулярно-генетических методов в современной биологии позволяет детально раскрыть патобиохимические причины появления заболеваний (врожденных, приобретенных), использовать их в диагностике и способствуют продвижению в медицинскую практику новых способов коррекции. «Генетические маркёры» сахарного диабета показано, что ряд заболеваний может передаваться по наследству, а у части популяции имеются предпосылки для возникновения того или иного заболевания. Были обнаружены гены и их белковые продукты, которые отвечают за развитие таких заболеваний. В лабораторной практике иногда их называют «генетическими маркерами». Изучение таких маркёров дает возможность выделить группы различного риска развития заболеваний, и в частности, сахарного диабета. Такой подход может упростить раннюю диагностику заболевания (риск развития заболевания), до проявления основных клинических признаков. При помощи генетических маркёров можно выявить группы людей с наличием риска развития диабета [3,6,11,17].

В последние годы, риск развития нефропатии определенно детерминирован генетическими факторами. Только приблизительно у 40-50% пациентов как с СД 1 типа, так и СД 2 типа в последующем развивается ДН [1,2]. Генетические факторы могут непосредственно влиять на развитие ДН и/или действовать совместно с генами, влияющими на сердечно-сосудистые заболевания. Поиск генетических маркеров предрасположенности или, напротив, устойчивости к заболеваниям одна из наиболее актуальных задач медицинской науки. [5,9]. Это определяется тем, что установление таких маркеров открывает возможность клиницистам формировать группы риска развития заболеваний, а при некоторых патологиях устанавливать индивидуальный прогноз или диагноз (в том числе до клинической манифестации заболеваний). Оценка роли того или иного генетического маркера при СД зависит от расово - этнических вариаций частот встречаемости аллелей и генотипов в исследованных популяциях [11,20].

Представляет интерес изучение и выявление взаимосвязи полиморфизма гена APOE и гена PPARG2 как предиктора развития и прогрессирования ДН у больных с СД 2 типа и определение генетической детерминированности их факторов риска в узбекской национальности.

Полиморфизм гена APOE и гена PPARG2 при СД 2 типа и при его макро и микрососудистых осложнениях в узбекской национальности ранее не изучался.

**Цель.** Оценка вклада полиморфного маркера Leu28Pro гена APOE и полиморфного маркера Pro12Ala гена PPARG2 в риске развития диабетической нефропатии при СД 2 типа у лиц узбекской национальности.

### **Материал и методы**

В Республиканском научно-практическом центре нефрологии на базе III клиники ТМА были обследованы основную группу 129 больных СД 2-го типа и контрольную группу составили 110 здоровых лиц узбекской нации, включенных по принципу «случай-контроль». Пациенты в основной группе были распределены следующим образом: 65 пациентов с длительностью заболевания до 10 лет, без диабетической нефропатии (33 пациента) и с диабетической нефропатией (32 пациента), 64 пациентами - с диабетом, продолжающимся более 10-20 лет, с без диабетической нефропатии (31 пациента) и диабетической нефропатии (33 пациента). Изучались такие показатели как результатов общих анализов крови и мочи, липидного спектра, гликемического профиля, гликозилированного гемоглобина, микроальбуминурии, скорость

клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКД-ЕPI, уровень эндотелина-1 в плазме крови, ЭхоКГ, СМАД и доплерографическое исследование сосудов почек.

Тестирование полиморфизма Leu28Pro гена APOE и полиморфизма Pro12Ala гена PPARG2 проводилось на программируемом термоциклере фирмы «AppliedBiosystems» 2720 (США), с использованием тест-систем компании «Литех» (Россия), согласно инструкции производителя.

Для статистической обработки материала использовалась программа STATISTICA 6. Данные представлены в виде средних значений со стандартным отклонением ( $M \pm SD$ ). Нормальность распределения проверялась критерием Колмогорова-Смирнова. Относительный риск заболевания у носителей определенного аллеля и генотипа вычислялся как показатель отношения шансов (OR - oddsratio). Значение OR вычисляли с помощью онлайн-калькулятора программы «Медицинская статистика» ([http:// medstatistic.ru/calculators.html](http://medstatistic.ru/calculators.html)).

Распределение генотипов проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга. Коэффициент корреляции  $r$  рассчитывали методом Спирмена. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

Все пациенты подписывали информированное согласие перед проведением обследования.

### Результаты и их обсуждение

Частота аллелей и генотипов полиморфизма Leu28Pro гена APOE у всех пациентов (основная группа) и контрольной выборке показана на рисунке 1.

Рис.1



В нашем исследовании было исследовано распределение генотипов и аллелей полиморфного маркера Leu28Pro гена APOE у основных и контрольных пациентов.

Распространенность аллеля Leu в основной и контрольной группах составила 89,5% и 95,95% соответственно. Частота распространения функционального неблагоприятного аллеля Pro составила 10,4% и 4,1% соответственно. Статистический отчет показывает, что у носителей аллеля Pro вероятность развития заболевания в 2,7 раза выше, чем у носителей аллеля Leu, и разница между ними является достоверной статистической величиной ( $\chi^2 = 6,9$ ;  $P = 0,008$ ;  $OR = 2,7$ ; 95% CI 1,2597-5,9608). Аллель Leu указывает на то, что он обладает защитным действием против прогрессирования заболевания. ( $\chi^2 = 6,9$ ;  $P = 0,008$ ;  $OR = 0,4$ ; 95% CI 0,1678-0,7938) (Таблица 1)

**Таблица 1. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма Leu28Pro гена APOE в основной и контрольной группах пациентов СД 2-типа.**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов				$\chi^2$	P	RR	95% CI	OR	95% CI
	основная группа N %		Контроль N %							
Leu	31	9,5	11	95,9	6,9278	0,0085	0,9335	0,6203-1,4049	0,3649	0,1678-0,7938
Pro	7	0,4	9	4,1	6,9278	0,0085	2,5581	1,6998-3,8499	2,7403	1,2597-5,9608
Leu/Leu	102	9,0	101	91,8	7,5421	0,006	0,8612	0,5455-1,3597	0,3366	0,1508-0,7515
Leu/Pro	7	20,9	9	8,2	7,5421	0,006	2,5581	1,6202-4,0388	2,9706	1,3308-6,6311
Pro/Pro										

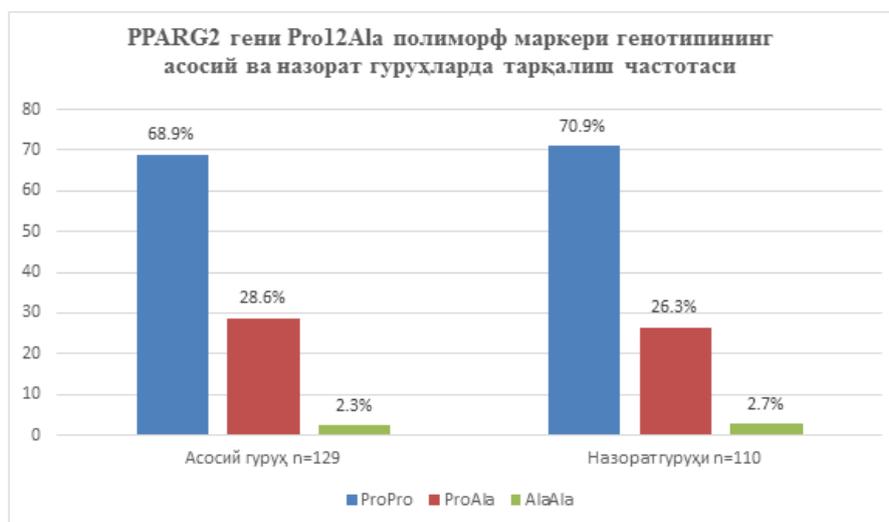
Согласно результатам из основной и контрольной групп, распространенность генотипов Leu/Leu, Leu / Pro составила 79,0%, 20,9% и 91,8%, 8,2%, но генотип Pro/Pro в нашем анализе мутационного генотипа. Согласно статистическому отчету, вероятность заболевания у носителей генотипа Leu/Pro в 2,9 раза выше, чем у носителей генотипа Leu/Leu, и разница между ними статистически значима. ( $\chi^2 = 7,5$ ; P = 0,006; OR = 2,9; 95% CI 1,3308-6,6311).

Генотип Leu/Leu был значительно ниже в основной группе, чем в контрольной группе, на 79,0%, 91,8% и показал защитную функцию против прогрессирования заболевания ( $\chi^2 = 7,5$ ; P = 0,006; OR = 0,3; 95% CI 0,1508). -0,7515). (Таб.1.)

В нашем исследовании продемонстрировало ассоциацию между носительством Pro-аллеля (генотип Leu/Pro) гена APOE и диабетической нефропатией у больных СД 2-го типа. Полученные результаты согласуются с данными отечественных и зарубежных авторов, показавших, что носительство Pro-аллеля является независимым фактором риска ДН у пациентов с СД 2-го типа в различных этнических группах [6].

Частота аллелей и генотипов полиморфизма Pro12Ala гена PPARG2 у всех пациентов (основная группа) и контрольной выборке показана на рисунке 2.

Рис.2



В нашем исследовании распределение генотипов и аллелей полиморфного маркера Pro12Ala в гене PPARG2 сравнивались у пациентов основных и контрольных групп.

Распространенность аллеля Pro в изученных основной и контрольной группах составила 83,3% и 83,1% соответственно. Частота распространения патологических Ala-аллеля составила 16,6% и 15,9% соответственно. По статистическому расчету, у носителей аллелей Ala вероятность развития заболевания в 1,05 раза выше, чем у носителей аллеля Pro, но различие не было статистически значимым ( $\chi^2 = 0,05$ ;  $P = 0,8$ ;  $OR = 1,0$ ; 95% CI 0,6492-1,7214). А константный аллель Pro оказывает защитное действие на прогрессирования заболевания ( $\chi^2 = 0,04$ ;  $P = 0,8$ ;  $OR = 0,9$ ; 95% -й ДИ 0,5809-1,5403).

**Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма Pro12Ala гена PPARG2 в основной и контрольной группах пациентов СД 2-типа.**

Таблица 2

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов				P	OR	95% CI
	Основная группа N %		Контрольная группа N %				
Pro	215	83,3	185	83,1	0,0499	0,8232	0,5809-1,5403
Ala	43	16,6	35	15,9	0,0499	0,823	0,6492-1,7214
Pro/Pro	89	68,9	78	70,91	0,1036	0,7475	0,5238-1,5908
Pro/Ala	37	28,6	29	26,36	0,1597	0,6894	0,6349-1,9873
Ala/Ala	3	2,3	3	2,73	0,0391	0,8432	0,1679-4,2952

По результатам основных и контрольных групп, частота распространения генотипов Pro/Pro, Pro/Ala, Ala/Ala составила 68,9%, 28,6%, 2,3% и 70,91%, 26,36%, 2,73% соответственно. Согласно статистическому расчету, у носителей генотипа Ala/Ala не наблюдалось какой-либо вероятности развития заболевания по сравнению с носителями генотипа Pro/Pro, и разница между ними не была статистически значимой ( $\chi^2 = 0,04$ ;  $P = 0,8$ ;  $OR = 0,8$ ; 95% CI 0,11679-4,2952).

Генотип Pro/Pro был значительно ниже в основной группе, чем в контрольной группе, 68,9%, 70,91% и не обнаружено какой-либо предрасположенности к прогрессированию заболевания, но указывает на то, что он оказывает защитное действие на прогрессировании заболевания ( $\chi^2 = 0,1$ ;  $P = 0,7$ ;  $OR = 0,9$ ; 95% CI 0,5238-1,5908). Было обнаружено, что гетерозиготный генотип Pro/Ala был несколько более распространенным в основной группе, чем в контрольной группе, с вероятностью развития болезни в 1,1 раза большей, чем генотипы Pro/Pro и Ala/Ala, но различие не было статистически значимым ( $\chi^2 = 0,2$ ;  $P = 0,7$ ;  $OR = 1,1$ ; 95% CI 0,6349-1,9873) (Таблица 2).

Учитывая частоту встречаемости аллеля Ala и гетерозиготного генотипа Pro/Ala у больных сахарным диабетом 2-типа больше чем в контрольной группе, можно думать о роли вероятности этого аллеля и генотипа на прогрессирование заболевания, несмотря на статистическую незначимость.

Наше исследование продемонстрировало ассоциацию между носительством Pro-аллеля (генотип Leu/Pro) гена APOE, Ala аллеля (гетерозиготный генотип Pro/Ala) гена PPARG2 и диабетической нефропатией у больных СД 2-го типа. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что генотипы полиморфного маркера leu28pro гена APOE и Pro12Ala гена

PPARG2 играет важную роль в развитии ДН у больных сахарным диабетом 2-го типа в исследуемой узбекской нации.

### Заключение

Таким образом, в результате исследования выявлена достоверная ассоциация риска диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа с генами кодирующими факторы метаболизма липидов (APOE) и генами кодирующий ядерный рецептор (PPARG2), продукты экспрессии которых играют роль в патогенезе поражения почек при сахарном диабете. Результаты настоящего исследования указывают на важность дальнейшего изучения молекулярных основ развития и прогрессирования ДН приведут к разработке новых перспективных направлений в профилактике этой патологии.

### Список литературы

1. Шестакова М.В., Шамхалова М.Ш. Диабетическая нефропатия: клиника, диагностика, лечение // Методическое пособие. Москва, 2009г.-29с.
2. Железнякова А.В., Лебедева Н.О., Викулова О.К., и др. Риск развития хронической болезни почек у больных сахарным диабетом 2 типа детерминирован полиморфизмом генов *NOS3*, *APOB*, *KCNJ11*, *TCF7L2* // Сахарный диабет. 2014. №3. С. 23-30.
3. Бондарь И.А., Шабельникова О.Ю. Генетические основы сахарного диабета 2 типа // Сахарный диабет.- 2013, №4.- С.11-16.
4. Потапов В.А. Поиск генетических маркеров, определяющих предрасположенность к сахарному диабету типа 2. Автореф. дис. канд. мед. наук. Москва – 2010.- 24с.
5. Шестакова М.В., Шамхалова М.Ш., Ярек-Мартынова И.Я. и др. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения// Сахарный диабет.- 2011, №1.- С.81-87.
6. Jabbarov, O. O., Tursunova, L. D., Tashpulatova, M. X., Daminov, V. T., Boboev, K. T., & Maksudova, L. I. (2020). Associations of polymorphic markers aluins/deli> D Ace T-786C gene Enos3 in diabetic nefropate progressing for type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(4), 6028-6032.
7. Савельева С.А., Крячкова А.А., Железнякова А.В. и др. Исследование полиморфного маркера Pro12Ala гена  $\gamma$  формы рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом, у больных сахарным диабетом 2 типа с диабетической нефропатией// Матер. VII съезда Научного общества нефрологов России. М., 2010.- С.110-111.
8. Жуманазаров, С. Б., Жаббаров, А. А., Мирзаева, Г. П., Эшонов, Ш. Н., & Бобокулов, М. Б. (2021). Прогностическое Значение Клинико-Патогенетических Особенности Развития Хронической Болезни Почек Вследствие Гломерулярных Заболеваний. *Central Asian Journal of Medical and Natural Science*, 2(2), 175-184.
9. Jabborov, O. O. (2019). Features of Genetic polymorphism in population with diabetic nephropathia: Literature review.
10. ЙУЛДОШЕВ, Т. Р., Жаббаров, О., Максудова, М., & Жуманазаров, С. Оценка поражения желудочно-кишечного тракта у больных хронической болезнью почек III–IV стадии и пути их коррекции. *AXBOROTNOMASI*, 95, 33.

11. Tursunova, L. D., & Jabbarov, O. O. (2021). APPLICATION OF SAKABUTRIL/VALSARTAN IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS. *Art of Medicine. International Medical Scientific Journal*, 1(1).
12. Jabbarov, O. O., & Khujaniyazova, N. K. (2022). Assessment of the role of the leu28pro polymorphic marker of the apoe gene in diabetic nephropathy. *ACADEMICIA: An International Multidisciplinary Research Journal*, 12(1), 297-301.
13. Сапарбаева, Н. М., Жаббаров, О. О., & Собиров, М. О. (2017). Состояние биоценоза кишечника у больных с хронической болезнью почек II-III стадии. *Биология и интегративная медицина*, (2), 18-33.
14. Hong G., Davis B., Khatoon N. et al. PPAR gamma-dependent anti-inflammatory action of rosiglitazone in human monocytes: suppression of TNF alpha secretion is not mediated by PTEN regulation// *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;303(3):782-7.
15. Jabbarov O.O. Genetic factors of diabetic nephropatia in patients with type 2 diabetes mellitus // *Global journal of medical research*. No.1, 2019. pp. 1-7.
16. Dellamea B.S., Pinto L.C., Leitaо C.B., et. al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of diabetic nephropathy: a systematic review and meta-analysis // *Bio Med Central Medical Genetics*. 2014. Vol. 15. P. 9-23.
17. Jabbarov O.O. Features of Genetic polymorphism in population with diabetic nephropatia: Literature review // *Journal of advances in medicine and medical research*. 29(9): 1-7,2019.
18. Ezzidi I., Mtiraoui N., Mohamed M.B., et al. Association of endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and -786T>C gene variants with diabetic nephropathy // *Journal of Diabetes and its Complications*. 2008. Vol. 22, №5. P. 331-338.
19. Parving H-H, Osterby R, Ritz E. Diabetic nephropathy. In: Brenner BM, ed. *The kidney*. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000:1731-73.
20. Yoon Y., Song J., Hong S.H., et. al. Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease // *Clinical Chemistry*. 2000. Vol. 46, №10. P. 1626-1630.
21. Colombo M.G., Paradossi U., Andreassi M.G., et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease // *Clinical Chemistry*. 2003. Vol. 49, №3. P. 389-395.