

**ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТОТА ГЕНОТИПОВ  
ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА Leu28Pro ГЕНА APOE и  
AluIns/DelI>D ГЕНА ACE ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ  
У БОЛЬНЫХ СД 2 ТИПА**

Жаббаров О. О.

Турсунова Л. Д.

Ташкентская медицинская академия

**Резюме:**

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

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

**Keywords:** diabetic nephropathy, diabetes mellitus, gene, polymorphism, allele, genotype.

**Conclusion**

This article presents the results of a study of 129 patients with type 2 diabetes and 110 healthy people to determine whether polymorphic Leu28Pro polymorphic markers of the APOE gene end AluIns/DelI>D of the ACE gene are associated with the development of diabetic nephropathy. Patients in the main group: 65 patients with a disease duration of up to 10 years, without diabetic nephropathy (33 patients, group 1) and with diabetic nephropathy (32 patients), 64 patients with diabetes lasting more than 10-20 years, with no diabetic nephropathy

(31 patients, group 3) and diabetic nephropathy (33 patients). Genotyping was carried out by polymerase chain reaction. The study showed the association of the Pro allele and the Leu/Pro genotype of the APOE gene and D allele and I/D genotype of ACE gene play a significant role in the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes in the studied Uzbek nation.

### **Введение**

Сахарный диабет (СД) на сегодняшний день все больше приобретает черты глобальной эпидемии. Диабетическая нефропатия (ДН) сегодня самая частая причина терминальной почечной недостаточности - почти 35 % уремиков [2,3].

При ДН наблюдается поражение мелких кровеносных сосудов фильтрующего аппарата почек, приводящее в дальнейшем к увеличению количества белка, выделяющегося с мочой (протеинурии) [6,1,7]. ДН развивается у 13-15% лиц в общей популяции и гораздо чаще - до 40-50% – в группах риска, к которым относятся пациенты с СД2-типа [2,8,12]. По прогнозам Международной диабетической федерации, количество больных СД в мире к 2035 г. увеличится до 587 млн человек, из них 95% - пациенты с СД2 [5,10,11].

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 [5,2,14]. 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 [1,9].

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 [11,13]. В последние годы в литературе широко обсуждается генетический риск развития СД и его осложнений в зависимости от генов инсулинорезистентности, генов определяющих пониженный уровень инсулина, полиморфизма гена ангиотензин-1- превращающего фермента (АСЕ), гена АРОЕ у пациентов с обоими типами сахарного диабета [5,3,4].

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

Полиморфизм гена АРОЕ и гена АСЕ при СД2 типа и при его макро и микрососудистых осложнениях в узбекской национальности ранее не изучался.

**Цель.** Оценка вклада полиморфного маркера гена АРОЕ и гена АСЕ 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 Leu/Pro гена APOE и полиморфизма AluIns/DelI>D гена ACE 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>).

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 2.

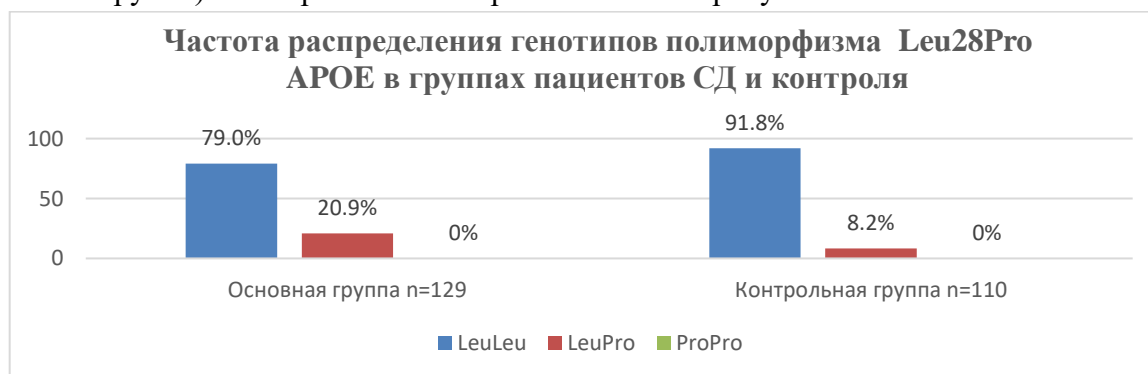


Рис.2

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) (Таб.2)

Таблица 2

**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.)

Частота аллелей и генотипов полиморфизма AluIns/DelI>D гена ACE у всех пациентов (основная группа) и контрольной выборке показана на рисунке 1.

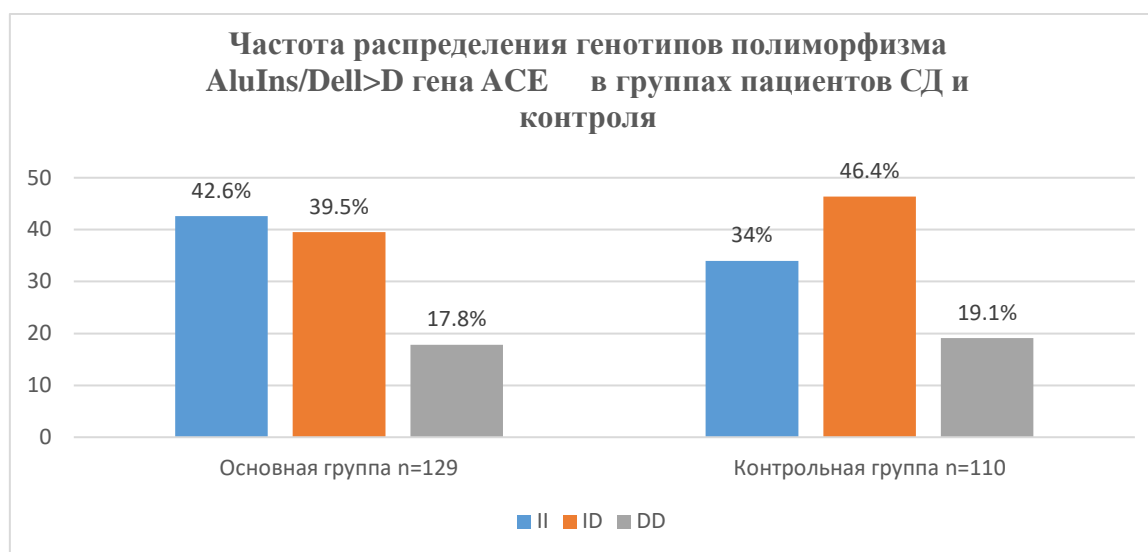


Рис.1

Распространенность аллеля I в изученных первой и второй группах составила 56,0% и 79,5% соответственно. Частота распространения неблагоприятного D-аллеля 43,9% и 20,9% соответственно. Согласно статистическому расчету у носителей аллеля D вероятность развития заболевания в 2,9 раза статистически значимо выше, чем у носителей аллеля I ( $\chi^2 = 7.6$ ;  $P=0.006$ ;  $OR=2.9$ ; 95% CI 1.353-6.452). Аллель I ( $\chi^2 = 7.6$ ;  $P=0.006$ ;  $OR=2.9$ ; 95% CI 1.353-6.452) указывает на то, что он оказывает защитное действие на прогрессирования заболевания.

Таблица 2

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма AluIns/DelI>D гена ACE в первой и третьей группах пациентов СД 2 типа

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов				$\chi^2$	P	OR	95% ДИ
	Первая группа		Третья группа					
	N	%	N	%				
I	37	56,0	49	79,0	7,652	0,006	0,339	0,155-0,739
D	29	43,9	13	20,9	7,652	0,006	2,954	1,353-6,452
I/I	11	33,3	21	67,7	7,57	0,006	0,238	0,084-0,677
I/D	15	45,4	7	22,5	3,707	0,054	2,857	0,965-8,46
D/D	7	21,2	3	9,6	1,613	0,204	2,513	0,587-10,76

По результатам в первой и третьей группе частота распространения генотипов I/I, I/D и D/D составила 33,3%, 45,4%, 21,2% и 67,7%, 22,5%, 9,6% соответственно. Согласно статистическому расчету, у носителей генотипа DD вероятность развития заболевания в 2.5 раза выше, чем у носителей генотипа I/I и разница между ними имеет достоверную статистическую значимость ( $\chi^2 = 1.6$ ;  $P=0.2$ ;  $OR=2.5$ ; 95% CI 0,587-10,76).

Генотип II был значительно ниже в первой группе, чем в третьей группе на 33,3%, 67,7% и показал защитную функцию против прогрессирования заболевания ( $\chi^2 = 7,52$ ;  $P=0,006$ ;  $OR=0,2$ ; 95% CI 0,084-0,677). Генотип I/D также был значительно ниже в третьей группе, чем в первой группе, 45,4% и 22,5% соответственно и играл незначительную роль на развитие патологии ( $\chi^2 = 0,02$ ;  $P=0,9$ ;  $OR=1,1$ ; 95% CI 0,529-2,113) (Таблица 2).

В нашем исследовании продемонстрировано ассоциацию между носительством Pro-аллеля (генотип Leu/Pro) гена APOE и диабетической нефропатией у больных СД 2-го типа. А также было выявлено ассоциация между носительством D-аллеля (генотип DD) гена ACE и диабетической нефропатии у больных СД 2-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].

Эти данные и результаты нашего исследования позволяют сделать вывод, что генотипы полиморфного маркера leu28pro гена APOE и AluIns/DelI>D гена ACE 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 кодирующими компоненты РАС - ген ангиотензин – превращающего фермента (ACE), 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. Rodrigues, A. Genetic variants in genes related to lipid metabolism and atherosclerosis, dyslipidemia and atorvastatin response / A. Rodrigues [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2013. – Vol. 417. – P. 8-11.
2. 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.
3. Дедов И. И. Диабетическая нефропатия / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. - М. : Универсум Паблишинг, 2000. - 240 с.
4. 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.
5. Villeneuve, S. The potential applications of Apolipoprotein E in personalized medicine / S. Villeneuve, D. Brisson, N. Marchant, D Gaudet // *Frontiers in Aging Neuroscience*. – 2014. - Vol. 154. – P. 3-6.
6. Koopal, C. Influence of APOE-2 genotype on the relation between adiposity and plasma lipid levels in patients with vascular disease / C. Koopal, Y. van der Graaf, F. Asselbergs, J.

Westerink, F. Visseren // Int J Obes Relat Metab Disord. – 2015. - Vol. 39. - № 2. - P. 265–269.

7. 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.

8. Tursunova, L. D., and O. O. Jabbarov. "Application of sakabutrill/valsartan in patients with chronic kidney disease with type 2 diabetes mellitus." *Art of Medicine. International Medical Scientific Journal* 1.1 (2021).

9. Маслова О.В., Сунцов Ю.И., Шестакова М.В., Казаков И.В., Викулова О.К., Сухарева О.Ю., Мартынов С.А., Трубицына Н.П. Распространенность поражения почек при сахарном диабете 1 и 2 типов в Российской Федерации // Сахарный диабет – 2009 - № 4. - С. 47-51.

10. 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.

11. Шестакова М.В., Шамхалова М.Ш. Диабетическая нефропатия: клиника, диагностика, лечение // Методическое пособие. Москва, 2009г.-29с.

12. Рахимова Г.Н., Садыкова А.С., Мухаммедов Р.С., Нурматов Ш.Т. Ассоциация полиморфных маркеров I/D гена ACE с развитием диабетической нефропатии у детей и подростков с СД 1 типа узбекской национальности//Проблемы биологии и медицины.- 2007.-1. стр.86-88.

13. Munoz J, Lok KH, Gower BA, Fernandez JR, Hunter GR, Lara-Castro C, De Luca M, Garvey WT. Polymorphism in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene is associated with reduced insulin secretion in nondiabetic women. *Diabetes*. 2006 Dec;55(12):3630-4.

14. Alberti G., Zimmet P., Shaw J. IDF. Epidemiology Task fores consensus group. The metabolic syndrome – a new worldwide definition //Lancet. – 2005. – Vol.366 – P. 1059-1062.