

G915C ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TGF β 1 У МУЖЧИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА УЗБЕКСКОЙ НАЦИОНАЛЬНОСТИ

Г.Г. АКРАМОВА, З.С. АКБАРОВ, Ф.А. ТАХИРОВА, С.И. ИСМАИЛОВ

Республиканский Специализированный Научно-Практический Медицинский Центр Эндокринологии, Республика Узбекистан, г. Ташкент

Ташкентский педиатрический медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ташкент

ЎЗБЕК ПОПУЛЯЦИЯСИДА ҚАНДЛИ ДИАБЕТ 2 ТУРИ ЭРКАКЛАРДА ГЕНИНИНГ G915C ПОЛИМОРФИЗМИ

Г.Г. АКРАМОВА, З.С. АКБАРОВ, Ф.А. ТАХИРОВА, С.И. ИСМАИЛОВ

Республика Ихтисослаштирилган Эндокринология Илмий -Амалий Тиббиёт Маркази,

Ўзбекистон Республикаси, Тошкент

Тошкент педиатрия тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент

G915C POLYMORPHISM OF TGF β 1 GENE IN TYPE 2 DM MEN OF UZBEK POPULATION

G.G. AKRAMOVA, Z.S. AKBAROV, F.A. TAKHIROVA, S.I. ISMAILOV

Center for the Scientific and Clinical Study of Endocrinology, Republic of Uzbekistan, Tashkent

Tashkent Pediatric Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Tashkent

Материаллар ва усуллар: ўзбек популяциясида КД 2 тури билан 158 та эркаklar қўриб чиқилди. *Натижалар.* ўтказилган тадқиқот натижаларига кўра, TGF β 1 генининг С аллели КД 2турида (8,2%) ва соғлом шахсларда (3,2%), G аллелга нисбатан анча кам учраши кузатилди. СС генотипи учраши тезлиги КД 2турда (84,8%; $p=0,31$) ва соғломларда (93,5%) ҳам бир хилда юқори. КД 2турда (13,9%; $p=0,40$) ва соғломларда (6,5%) СG генотипининг учраши бир юқорилиги билан муҳим фарқланмади. Соғлом эркаklarда гомозиготали GG генотип учрамади. Хулоса. Ўзбек популяциясидаги соғлом эркаklar ва КД 2тур беморлари текширилган гуруҳлари ўртасида, соғломлар гуруҳида GG генотипининг йўқлигидан ташқари, TGF β 1 генининг G915C полиморфизмининг на аллеллари, на генотипларида тайинли фарқ йўқ.

Калит сўзлар: қандли диабет 2 тур, ўзбек популяциясидаги эрганлар, трансформирланган ўсиш фактори бета, генотиплар.

Materials and methods: 158 male patients with DM type 2 men Uzbek population have been surveyed. *Results:* Analysis of the research showed that the allele C gene TGF β 1 occurs much less frequently than allele G in both healthy individuals (3,2%), and in patients with type 2 DM of (8,2%). CC genotype frequency of equally high and (93,5%) in healthy patients and DM (84,8; $p=0,31\%$). No significant differences in genotype frequency of CG in healthy subjects and 6,5% of patients with type 2 DM (13,9%). Homozygous GG genotype in healthy men was not present. *Conclusion:* Except for lack GG genotype among researched healthy men and patients with type 2 DM of Uzbek population no significant difference was detected neither in allele, nor in representation of genotypes G915C polymorphism gene TGF β 1.

Keywords: diabetes mellitus type 2, men of Uzbek nationality, transforming growth factor beta, genotypes

В настоящее время в мире сахарный диабет (СД) является одним из наиболее распространенных заболеваний [8]. По прогнозам экспертов IDF в 2015 г. количество больных СД составило 415 миллиона человек, к 2040 году прогнозируется увеличение до 645 миллионов человек, т.е. каждый десятый взрослый будет болеть диабетом [1, 5]. Согласно расчетным данным IDF, в Узбекистане число лиц с СД в возрасте 20-79 лет, составляет 963 900 человек (5,05% взрослого населения), однако официально зарегистрировано немногим больше 169 000 (0,8%) [1].

Исследования последних лет, что немало важную роль в развитии осложнений СД играют наследственные факторы. Роль генетической составляющей в генезе СД 2 типа (СД2) доказывают

выявленные локусы предрасположенности - как в европейских, так и в азиатских популяциях [3, 4].

Было определено более 100 генов, ассоциированных с риском развития СД2, большинство из которых влияют на секрецию инсулина, однако точный молекулярный механизм их влияния окончательно не установлен. Раскрытие этих механизмов поможет понять основы патофизиологии СД2 и определить группы людей с высоким риском развития СД2, для проведения профилактических мероприятий. Однако данные по большинству этих вариантов далеко не всегда подтверждаются в различных исследованиях, а зачастую и противоречат друг другу [2]. Одним из важных модуляторов клеточного роста, воспаления, пролиферации и дифференцировки, внеклеточного матричного депонирования и апоптоза

является трансформирующий фактор роста бета (TGF- β 1) [6]. В исследовании Beránek M. et al. [7] показано, что TGF- β 1 является одной из важных молекул контролирующих формирование новых сосудов и экспрессируется в тканях глаза, включающих роговицу, ресничный эпителий, эпителий хрусталика, сетчатку и кровеносные сосуды. Предполагают, что TGF- β 1 и цитокины, особенно интерлейкины и факторы некроза опухолей (TNFs) функционируют в качестве локальных амплификаторов сигналов при патологических процессах, ассоциированных с хроническим воспалением глаза. Экспрессия TGF- β 1 повышается у пациентов с ишемией сетчатки, а также у лиц с пролиферативной диабетической ретинопатией (ПДР) и играет важную роль в стимулировании ангиогенеза и ингибировании эндотелиальной функции в глазе. Локальная активация экспрессии TGF- β 1 может играть существенную роль в развитии пролиферативной фазы диабетической ретинопатии.

Данные о клиническом значении TGF- β 1 у больных с СД 2 типа немногочисленны и ранее в узбекской популяции они не проводились. В связи с этим целью наших исследований явилось изучение ассоциаций вариантов гена TGF- β 1 у мужчин с СД 2 узбекской национальности.

Материалы и методы. Обследовано 158 мужчин больных СД2 мужчин узбекской национальности. Группа больных СД2 формировалась из числа больных клиники РСНПМЦЭ и Ташкентского городского эндокринологического диспансера. Принадлежность к узбекской национальности считали установленной, если родители и бабушка с дедушкой имели соответствующую национальность. Критерии включения: больные СД 2 типа, мужской пол, возраст старше 45 лет, узбекская национальность. Критерии исключения: больные СД 1 типа, женский пол, возраст младше 45 лет, неузбекская национальность.

Всем больным проводилось стандартное комплексное клиничко-лабораторное обследование, включающее в себя сбор анамнеза, физикальный осмотр больного, лабораторно-инструментальные исследования. Молекулярно-генетические исследования гена TGF β 1 проводились в лаборатории геномики при Институте Биорганической химии (ИБОХ) Академии Наук Республики Узбекистан (АН РУз). Выделение ДНК из цельной крови осуществлялось набором реагентов Diatom™ DNA Prep 200 (производство ООО “Лаборатория ИзоГен”, Москва, Россия). Данный набор реагентов основан на использовании лизирующего реагента с гуанидинтиоцианатом, который предназначен для лизиса клеток, солиubilизации клеточного дербиса, а также для денатурации клеточных нуклеаз. В присутствии лизирующего реагента ДНК активно сорбируется

на NucleoST™ - сорбенте. ДНК, элюированная из сорбента ЭкстаГеном Е™ или чистой водой напрямую использовалась для дальнейшего проведения анализа. Выделение ДНК проводилось по стандартному протоколу выделения ДНК с использованием набора реагентов Diatom™ DNA Prep 200.

Типирование образцов ДНК по гену TGF β 1 проводилось с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров с участками гена TGFB1. ПЦР анализ проводили с использованием набора реагентов для ПЦР амплификации ДНК GenePak™ PCR Core (производство ООО “Лаборатория ИзоГен”). Использовались готовые для амплификации пробирки Master Mix, которые содержат в лиофилизированном сухом состоянии ингибированную “для горячего старта” Taq ДНК полимеразу, дезоксинуклеозотрифосфаты и хлорид магния с конечными концентрациями, соответственно, 1 и, 200 мкМ и 2,5 mM, а также оптимизированную буферную систему для проведения стандартной ПЦР амплификации. В пробирки Master Mix добавлялось по 5 мкл смеси праймеров, с конечной концентрацией 0.5 мкМ, 10 мкл ПЦР растворителя и по 5 мкл исследуемой ДНК. ПЦР амплификация проводилась по стандартному протоколу. Для проведения ПЦР амплификации использовали GeneAmp® ПЦР система 9700 с золотым 96-ячеечным блоком (Applied Biosystems). Программа амплификации включала 5 мин предварительной денатурации при 94 °C, 38 циклов: 94 °C – 60 с, 61 °C – 50 с, 72 °C – 60 с ; программу завершала элонгация при 72 °C в течение 5 мин.

Последовательность специфических олигонуклеотидных праймеров для проведения стандартной ПЦР-амплификации к гену TGF β 1

TGFB1	Pr_G915C_F	CAC CAG CTC CAT GTC GAT AG
gene	Pr_G915C_R	CTA CCT TTT GCC GGG AGA CC

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программ STATISTICA 6.

Описательная статистика качественных признаков (определение частоты встречаемости полиморфизмов генов) представлена абсолютными и относительными частотами. Сравнение несвязанных групп по качественным признакам (парное сравнение частот молекулярно-генетических показателей в группах больных и здоровых лиц) осуществляли с использованием двустороннего критерия χ^2 (критерий Пирсона) для таблиц сопряженности 2×2. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (95% ДИ), который рассчитывали с применением логистической регрессии. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Таблица 1.

Распространенность аллелей и генотипов G915C полиморфизма гена TGFβ1 у больных СД 2 и у здоровых

	Генетический маркер	Здоровые, n=31		СД 2 типа, n=158		ОШ	95%ДИ	p
		abc	%	abc	%			
1	Аллель С	60	96,8	290	91,8	0,37	0,09-1,61	0,27
2	Аллель G	2	3,2	26	8,2			
$\chi^2; p$		104,8; <0,00001		437,8; <0,00001				
3	Генотип CC	29	93,5	134	84,8	0,39	0,09-1,72	0,31
4	Генотип CG	2	6,5	22	13,9	2,35	0,52-10,5	0,40
5	Генотип GG	-	-	2	1,3			
$\chi^2; p$		43,6; <0,00001		158,0; <0,00001				

Результаты и обсуждение. Проведен генетический анализ распределения аллелей и генотипов G915C гена TGFβ1 у 158 мужчин больных СД 2 и у 31 практически здоровых мужчин. По нашим данным С аллель наблюдался одинаково часто как у практически здоровых лиц (96,8%) так и у больных СД2 (91,8%) (табл. 1).

При сравнении частоты аллельных вариантов гена TGFβ1 выявлено, что аллель С встречается существенно реже аллеля G и в группе здоровых добровольцев (3,2%) и больных СД2 (8,2%).

Частота встречаемости генотипа CC среди здоровых и больных СД2 не имела значимых отличий и составила соответственно у здоровых (93,5%) и у больных СД2 (84,8%; $p=0,31$). Нами также не установлены существенные различия по частоте генотипа CG в изученных группах (здоровых лиц – 6,5% и больных СД2 – 13,9%; $p=0,40$). Следует отметить, как у здоровых лиц, так и у больных СД2 генотип CG отмечался достоверно реже, чем генотип CC. Гомозиготный генотип GG у здоровых мужчин отсутствовал.

Сравнение частоты встречаемости аллелей С и G, генотипов CC, CG и GG G915C полиморфизма гена TGFβ1 у здоровых и больных СД 2 не обнаружило достоверной разницы, за исключением отсутствия GG генотипа в группе здоровых.

Таким образом, за исключением отсутствия GG генотипа в группе здоровых между исследованными группами здоровых мужчин и больных СД 2 узбекской популяции ни по аллелям, ни по представленности генотипов G915C полиморфизма гена TGFβ1 существенной разницы нет.

Литература:

1. Атлас IDF, 7-й выпуск 2015 г.
2. Бондарь И.А., Шабельникова О.Ю. Генетические основы сахарного диабета 2 типа//Сахарный диабет. - 2013. - №4. - С.11-16.
3. Лукьянчиков В.С., Зверева И.В. Патогенез и профилактика сосудистых осложнений при метаболическом синдроме и сахарном диабете 2 типа//РМЖ. – 2009. – № 10. – С. 717–720.

4. Майоров А.Ю. Инсулинорезистентность в патогенезе сахарного диабета 2 типа //Сахарный диабет. – 2011. – №1. – С. 35–43.

5. Alish C., Garvey W., Maki K.C. et al. A diabetes-specific enteral formula improves glycemic variability in patients with type 2 diabetes//Diabetes Technol Ther. – 2010. – Vol.12(6). – P.419–425.

6. Annes J., Munger J., Rifkin D. Making sense of latent TGF-beta activation//J. Cell. Sci. – 2003. – Vol.116. – P. 217–224.

7. Fernández-Real J., Pickup J. Innate immunity, insulin resistance and type 2 diabetes// Trends Endocrinol Metab. – 2008. – Vol.19(1). – P.10–16.

8. Tanti J., Ceppo F., Jager J., Berthou F. Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance//Front Endocrinol (Lausanne). – 2013. – Vol.3. – P.181.

G915C ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TGFβ1 У МУЖЧИН С СД 2 ТИПА УЗБЕКСКОЙ НАЦИОНАЛЬНОСТИ

Г.Г. АКРАМОВА, З.С. АКБАРОВ,
Ф.А. ТАХИРОВА, С.И. ИСМАИЛОВ

Материалы и методы. Обследовано 158 мужчин больных СД2 мужчин узбекской национальности. Результаты. Анализ проведенных исследований показал, что аллель С гена TGFβ1 встречается существенно реже аллеля G как у здоровых лиц (3,2%), так и у больных СД2 (8,2%). Частота встречаемости генотипа CC одинаково высока и у здоровых (93,5%) и у больных СД2 (84,8%; $p=0,31$). Не выявлено значимых различий по частоте генотипа CG у здоровых лиц (6,5%) и больных СД2 (13,9%; $p=0,40$). Гомозиготный генотип GG у здоровых мужчин отсутствовал. Вывод. За исключением отсутствия GG генотипа в группе здоровых между исследованными группами здоровых мужчин и больных СД 2 узбекской популяции ни по аллелям, ни по представленности генотипов G915C полиморфизма гена TGFβ1 существенной разницы нет.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, мужчины узбекской национальности, трансформирующий фактор роста бета, генотипы.