

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ

УДК 616.379-008.64

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА RS1801282 ГЕНА PPARG PRO12ALA С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ И ДРУГИХ ПОПУЛЯЦИЯХ

И.А. Бондарь¹, М.Л. Филипенко², О.Ю. Шабельникова³, Е.А. Соколова²¹ГБОУ ВПО "Новосибирский государственный медицинский университет" Минздрава России²ФГБУ "Институт химической биологии и фундаментальной медицины" СО РАН, Новосибирск³ГБУЗ НСО "Новосибирская областная клиническая больница"

E-mail: bondaria@oblmed.nsk.ru

ASSOCIATION BETWEEN GENE PPARG RS1801282 PRO12ALA AND TYPE 2 DIABETES IN NOVOSIBIRSK REGION AND OTHER POPULATIONS

I.A. Bondar¹, M.L. Filipenko², O.Y. Shabelnikova³, E.A. Sokolova²¹Novosibirsk State Medical University²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk³Novosibirsk State Clinical Hospital

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) относится к генетически гетерогенным, многофакторным заболеваниям, в патогенезе которого участвует инсулинорезистентность и дисфункция β -клеток. Цель исследования: проведение сравнительного анализа частоты ассоциации полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG Pro12Ala с СД2 в Новосибирской области и других популяциях. Обследован 391 больной СД2 и 556 жителей Новосибирской области без нарушения углеводного обмена. Определение аллелей и генотипов проводилось с использованием технологии TaqMan, аллель специфичной ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени. Анализ распределения частоты аллели риска 12Pro полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG в группе СД2 и группе контроля в Новосибирской области выявил достоверные различия ($OR [CI95\%]=1,43 [1,10-1,86]$, $p=7 \times 10^{-3}$). Преобладающим генотипом среди жителей Новосибирской области являлся генотип Pro12Pro. Носительство аллеля риска 12Pro полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG было ассоциировано с развитием СД2 в Новосибирской области, повышая риск его развития в 1,43 раза. Полученные данные соответствуют результатам генетических исследований в европейской популяции и отличаются от азиатской популяции. Частота аллеля 12Ala составила 17% и соответствовала распространенности в европейской популяции.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, генетика, инсулинорезистентность, PPARG.

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a genetically heterogeneous, multifactorial disease that is involved in the pathogenesis of insulin resistance and β -cell dysfunction. The aim of the study was to analyze the associations between the frequencies of Pro12Ala polymorphisms (rs1801282) in PPARG gene and T2DM in Novosibirsk region and other populations. The study included 391 T2DM patients and 556 residents of Novosibirsk region without disorders in carbohydrate metabolism. Identification of alleles and genotypes was performed by using the technology TaqMan, allele-specific PCR with real-time detection of the results. The study found that the distributions of the T2DM risk alleles in PPARG gene (rs1801282) in T2DM and control groups were significantly different ($OR [CI95\%]=1.43 [1.10-1.86]$, $p=7 \times 10^{-3}$). The main genotype was Pro12Pro in Novosibirsk region, as well as in other populations. The presence of the risk allele 12Pro of rs1801282 polymorphism in PPARG gene was associated with the development of T2DM in Novosibirsk region where it increased risk of T2DM to 1.43. The frequency of 12Ala allele was 17% which corresponded to its frequency in the European population.

Key words: type 2 diabetes mellitus, genetics, insulin resistance, PPARG.

Введение

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) относится к генетически гетерогенным, многофакторным заболеваниям в патогенезе которого участвует инсулинорезистентность и дисфункция β -клеток. Споры о том, что из этих двух механизмов первично, идут до настоящего времени. По данным комиссии по лечению атеросклероза у взрослых, действующей в рамках национальной образовательной программы NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III), в Соединенных Штатах Америки распространенность инсулинорезистентности среди больных СД2 составляет 80% [6]. На развитие инсулинорезистентности влияют генетические и фенотипические факторы (ожирение, артериальная гипертензия, дислипидемия, гиперурикемия). К одним из генов, определяющих чувствительность тканей к инсулину, относится ген, продуктом которого является рецептор, активируемый пролифератором пероксисом (PPARG), принадлежащий к суперсемейству ядерных рецепторов, входящих в группу факторов транскрипции. Его активация и связывание с ретиноидным рецептором X формирует гетеродимер, взаимодействующий со специфическими последовательностями ДНК, которые кодируют белки, участвующие в метаболизме липидов и глюкозы [4]. Впервые взаимосвязь полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG Pro12Ala, расположенного на хромосоме 3p25, с повышенным риском развития СД2 была описана в 1997 г. C.G. Yen с соавт [13]. Позже было показано, что лица гомозиготные по 12Pro отличаются более выраженной резистентностью к инсулину, ожирением, дислипидемией и гипертензией и имеют на 20% выше риск развития СД2 по сравнению с носителями аллеля 12Ala (OR=1.14 [1.08-1.2]) [4].

Несмотря на то, что влияние генетических детерминант на формирование инсулинорезистентности, по литературным данным, исследовано на жителях Китая и некоторых стран Европы и Америки, следует подчеркнуть, что каждая популяция имеет свой уникальный набор аллельных вариантов генов, и прямая экстраполяция результатов невозможна.

Цель исследования: проведение сравнительного анализа частоты ассоциации полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG Pro12Ala с сахарным диабетом 2-го типа в Новосибирской области и других популяциях.

Материал и методы

Обследован 391 больной СД2 (99 мужчин и 292 женщины, средний возраст – $59,6 \pm 8,5$ лет, длительность СД2 составила $8,2 \pm 7,1$ лет) на базе передвижного лечебно-профилактического модуля в районах Новосибирской области. Проводилась оценка клинических и метаболических параметров. Исследованы: концентрация глюкозы и инсулина в крови, показатели липидного обмена. Для оценки функционирования β -клеток и инсулинорезистентности рассчитаны индексы HOMA-IR (Homeostasis model assessment–insulin resistance) и HOMA- β (homeostasis model assessment of β -cell function). Группа контроля представлена 556 жителями Новосибирской области без нарушений углеводного обмена. Генотипи-

рование полиморфного маркера гена PPARG (rs1801282) проводили с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов. Общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл, смесь содержала 40–100 нг ДНК; 300 нМ каждого праймера (прямой праймер: 5'-CTCTTATGGGTGAACTCTGG-3', обратный праймер 5'-ATGAACACGATAGCAACGAG-3'); по 100 нМ TaqMan-зондов (для аллеля G 5'-R6G-CCTATTGACGCAGAAAGCGA-BHQ-3' и для аллеля C 5'-FAM-CCTATTGACCCAGAAAGCGA-BHQ-3'); 200 мкМ-ные dNTP, амплификационный буфер, термостабильную Taq-полимеразу – 1 ед.акт./реакцию. Амплификация проводилась с помощью амплификатора CFX96 (Bio-Rad, США) в следующих условиях: начальная денатурация 3 мин при 96 °C; затем 50 циклов, включающих денатурацию при 96 °C – 8 с, отжиг праймеров и последующую элонгацию при 60 °C – 40 с (каждый шаг сопровождался регистрацией флуоресцентного сигнала в диапазонах, соответствующих интервалам флуоресценции флуорофоров FAM и R6G).

Для статистической обработки использованы пакеты статистики "GenABEL", "Genetics" программного обеспечения R-project (www.r-project.org). Соответствие равновесию Харди-Вайнберга оценивали с помощью точного теста Фишера. Отношение шансов (odds ratio, OR) оценивали с помощью логистического регрессионного анализа для четырех моделей наследования признака: генотипическая ($df=2$), аддитивная, доминантная рецессивная. Выбор наилучшей модели проводили на основании критерия Акаике – лучшей признавалась модель с наименьшим показателем критерия. Для оценки межгрупповых различий проводился дисперсионный анализ (ANOVA). Критический уровень значимости принимали равным 0,05.

Протокол исследования одобрен комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол №52 от 19.03.2013). Перед включением в исследование все пациенты подписывали информированное согласие.

Результаты и обсуждение

Нами проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG в группах СД2 и группы контроля среди жителей Новосибирской области. Частота аллеля риска 12Pro (аллель C) у больных СД2 составила 0,87, в группе контроля – 0,83. Распределение генотипов полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG статистически значимо не отклонялось от равновесия Харди-Вайнберга ни в контроле, ни в группе больных СД2. Полиморфный маркер rs1801282 гена PPARG был ассоциирован с развитием СД2 у жителей Новосибирской области (OR=1,43, 95%CI=[1,10–1,86], $p=7 \times 10^{-3}$). Предрасположенность к СД2 наследовалась согласно аддитивной модели (табл. 1).

Проведенные ранее исследования на русской популяции продемонстрировали аналогичные результаты, носители аллеля риска 12Pro имели в 1,48 раз выше риск развития СД2 по сравнению с носителями аллеля 12Ala (аллель G) (OR[CI95%]=1.48[1.03-2,11], $p=0,032$ [2]. Наибо-

Таблица 1

Ассоциация полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG с развитием СД2 у жителей Новосибирской области

Генотипы	Количество СД2 Контроль		Генотипическая модель OR, 95%С.И., p-value, AIC	Аддитивная модель OR, 95%С.И., p-value, AIC	Доминантная модель OR, 95%С.И., p-value, AIC	Рецессивная модель OR, 95%С.И., p-value, AIC
C/C	299	382	2,01 [0,83–4,88] p=0,12			
C/G	85	156	1,40 [0,56–3,49] p=0,47	1,43 [1,10–1,86] p=7x10 ⁻³	1,84 [0,76–4,44] p=0,18	1,48 [1,10–1,99] p=9x10 ⁻³
G/G	7	18	Генотип норма			
Частота аллеля C	0,87	0,83	AIC: 1282,4	AIC: 1280,4	AIC: 1286	AIC: 1281
PXB	0,65	0,67		Алель риска C		

Примечание: PXB – равновесие Харди–Вайнберга. В таблице приведен уровень статистической значимости соответствия равновесию Харди–Вайнберга, вычисленный с помощью точного теста Фишера. AIC – Akaike Information criterion (Информационный критерий Акаике). OR – odds ratio (отношение шансов); 95%С.И. – 95% доверительный интервал OR; p-value – уровень статистической значимости.

лее высокая ассоциация полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG Pro12Ala с СД2 была выявлена у афроамериканцев, у которых у носителей аллеля риска 12Pro риск развития СД2 достигал 90% (OR[CI95%]=1,9[1,5–2,5] [7], и несколько реже встречалась в европейской популяции, носители аллеля риска 12Pro имели в 1,14 раз выше риск развития СД2 по сравнению с носителями аллеля 12Ala (OR[CI95%]=1,14[1,08–1,20] [3]. Исследования проведенные в Китае не выявили статистически значимой ассоциации наличия аллели 12Pro полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG с риском развития СД2 [5].

В работе В.А. Потапова наличие генотипа Pro12Pro ассоциировалось с более высокими уровнем базального инсулина и индекса HOMA-IR по сравнению с носителями генотипов Pro12Ala и Ala12Ala [2]. В нашем исследовании проводился анализ клинических и метаболических параметров в группе больных СД: индекса массы тела (ИМТ), отношения окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ), артериального давления (АД), уровня базального инсулина и глюкозы, параметров липидного обмена при различных генотипах данного полиморфного маркера. Выявлена тенденция к более высоким цифрам АД и низкому уровню ЛПВП у носителей генотипов Pro12Pro и Pro12Ala, однако достоверных различий клинических и метаболических параметров при различных генотипах полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG в группе больных СД2 не обнаружено (табл. 2).

Частота аллеля риска 12Pro в разных популяциях варьирует от 79–99% [1]. Мы провели сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов гена PPARG Pro12Ala в различных популяциях без нарушений углеводного обмена. Практически для всех популяций характерно преобладание генотипа Pro12Pro, однако имеются отличия в распространении аллеля 12Ala (табл. 3).

Нами выявлено, что у жителей Новосибирской области без нарушений углеводного обмена распространение аллеля 12Ala составило 17% и соответствовало европейской популяции (16–22%), в то время как у японцев и китайцев аллель 12Ala встречается значительно реже и составляет от 1 до 4%. [11].

Таким образом, проведенное нами исследование продемонстрировало, что преобладающим генотипом полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG среди жителей Новосибирской области, как и в других популяциях, является генотип Pro12Pro. Частота аллеля 12Ala у людей

Таблица 2

Клинические и метаболические параметры при различных генотипах полиморфного маркера rs1801282 гена PPARG у больных СД2 в Новосибирской области

Параметры	Генотипы			p
	Pro12Pro	Pro12Ala	Ala12Ala	
Возраст дебюта СД2, лет	50,7±9,1	49,5±10,5	50,7±12,3	0,088
Наследственность, %	45%	40%	57%	0,144
ИМТ, кг/м ²	33,4±6,1	33,4±6,3	35,0±10,3	0,473
ОТ/ОБ	0,95±0,06	0,94±0,06	0,87±0,02	0,331
АД, мм рт. ст.	150,3/91,6	164,7/93,5	145,7/86,4	0,051
Глюкоза натощак, ммоль/л	8,8±3,6	9,0±3,3	8,2±5,4	0,574
Глюкоза постпрандиальная, ммоль/л	9,5±3,1	10,1±2,8	9,1±2,9	0,881
Базальный инсулин, мкIU/мл	12,8±9,9	16,8±11,6	7,2±6,3	0,354
HOMA-IR	4,3±3,4	6,0±3,6	5,2±3,2	0,458
Холестерин, ммоль/л	5,8±1,6	5,7±1,5	5,2±1,6	0,990
Триглицериды, ммоль/л	2,2±1,7	1,5±2,0	2,4±2,2	0,087
ЛПНП, ммоль/л	3,8±1,4	3,6±1,4	3,4±1,1	0,424
ЛПВП, ммоль/л	1,3±0,2	1,2±0,3	1,4±0,1	0,073

Таблица 3

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов гена PPARG2 в Новосибирской области и других популяциях без нарушения углеводного обмена

Популяция	Генотипы			Аллели		Литература
	Pro12Pro	Pro12Ala	Ala12Ala	Pro	Ala	
Новосибирская область (русские)	0,69	0,28	0,03	0,83	0,17	
Украинцы	0,63	0,33	0,04	0,79	0,21	[1]
Чехи	0,63	0,30	0,07	0,79	0,22	[10]
Поляки	0,72	0,26	0,02	0,84	0,16	[8]
Американцы европеоиды	0,76	0,23	0,01	0,87	0,13	[3; 7; 12]
Японцы	0,92	0,07	0,01	0,96	0,04	[9]
Китайцы	0,98	0,01	0,01	0,99	0,01	[5; 11]

без нарушения углеводного обмена составила 17% и соответствовала европейской популяции. Носительство аллеля риска 12Pro полиморфного маркера rs1801284 гена PPARG2 было ассоциировано с развитием СД2 в Новоси-

бирской области, повышая риск развития СД2 в 1,43 раза, что соответствует данным других исследований, проведенных на русской популяции, несколько выше чем в европейской популяции и ниже, чем у афроамериканцев. Предрасположенность к СД2 наследовалась согласно аддитивной модели. Резюмируя полученные данные, следует подчеркнуть, что проведение клинико-генетических исследований может сыграть важную роль в прогнозировании СД2, раннем выявлении заболевания еще на доклинической стадии, эффективной профилактике и возможной индивидуализации терапии.

*Статья выполнена при поддержке
гранта РФФИ 13-04-00520.*

Литература

1. Кайдашев И.П., Расин А.М., Шлыкова О.А. и др. Частота Про12Ала полиморфизма гена PPAR γ 2 в украинской популяции и его возможная связь с развитием метаболического синдрома // Цитология и генетика. – 2007. – № 5. – С. 43–47.
2. Потапов В.А. Поиск генетических маркеров, определяющих предрасположенность к сахарному диабету 2-го типа : автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2010. – 24 с.
3. Altshuler D., Hirschhorn J.N., Klannemark M. et al. The common PPAR γ Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes // Nat. Genet. – 2000. – No. 26. – P. 76–80.
4. Deeb S.S., Fajas L., Nemoto M. et al. A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity // Nat. Genet. – 1998. – No. 20. – P. 284–287.
5. Fu M., Chen H., Li X. et al. Association of Pro12Ala variant in peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 gene with type 2 diabetes mellitus // Chinese J. Med. Gen. – 2002. – Vol. 19(3). – P. 234–238.
6. Grundy S.M., Cleeman J.I., Merz C.N. et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines // Circulation. – 2004. – Vol. 110(2). – P. 227–239.
7. Kao W.H., Coresh J., Shuldiner A.R. et al. Pro12Ala of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 gene is associated with lower serum insulin levels in nonobese African Americans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study // Diabetes. – 2003. – Vol. 52(6). – P. 1568–1572.
8. Malecki T.M., Fray J., Klupa T. The Pro12Ala polymorphism of PPAR γ 2 gene and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Polish population // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2003. – Vol. 62(2). – P. 105–111.
9. Mori H., Ikegami H., Kawaguchi Y. et al. Pro12Ala substitution in PPAR γ is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes // Diabetes. – 2001. – Vol. 50. – P. 891–894.
10. Pinterova D., Cerna M., Kolostova K. et al. The frequency of alleles of the Pro12Ala polymorphism in PPAR γ 2 is different between healthy controls and patients with type 2 diabetes // Folia Biol. (Praha). – 2004. – No. 5. – P. 153–156.
11. Sanghera D.K., Blackett P.R. Type 2 Diabetes Genetics: Beyond GWAS // J. Diabetes Metab. – 2012. – Vol. 3(05). – P. 2–17.
12. Waters K.M., Stam D.O., Hassanein M.T. et al. Consistent association of type 2 diabetes risk variants found in Europeans in diverse racial and ethnic groups // PLoS Genet. – 2010. – Vol. 6, Issue 8. – e1001078.
13. Yen C.J., Beamer B.A., Negri C. et al. Molecular scanning of the human Peroxisome proliferator activated receptor γ (hPPAR γ) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR γ 2 missense mutation // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1997. – Vol. 241. – P. 270–274.

Поступила 07.10.2013

Сведения об авторах

Бондарь Ирина Аркадьевна, докт. мед. наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии ГБОУ ВПО “Новосибирский государственный медицинский университет” Минздрава России.

Адрес: 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.

E-mail: bondaria@oblmed.nsk.ru

Филипенко Максим Леонидович, канд. биол. наук, руководитель группы “Фармакогеномики” ФГБУ “Институт химической биологии и фундаментальной медицины” СО РАН.

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 8.

Шабельникова Олеся Юрьевна, канд. мед. наук, руководитель Областного диабетологического центра ГБУЗ НСО “Новосибирская областная клиническая больница”.

Адрес: 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130.

E-mail: odc@oblmed.nsk.ru

Соколова Екатерина Александровна, аспирант ФГБУ “Институт химической биологии и фундаментальной медицины” СО РАН.

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 8.