

Ассоциация полиморфного маркера G276T гена адипонектина с сахарным диабетом типа 2 в кыргызской популяции

Исакова Ж.Т.¹, Талайбекова Э.Т.¹, Асамбаева Д.А.¹, Керимкулова А.С.², Лунегова О.С.², Алдашев А.А.¹

¹ — Институт молекулярной биологии и медицины, Бишкек, Кыргызская Республика, ул. Тоголок-Молдо, 3, e-mail: jainagul@mail.ru

² — Национальный центр кардиологии и терапии им. акад. Миррахимова, Бишкек, Кыргызская Республика, ул. Тоголок-Молдо, 3

Цель исследования. Изучить ассоциацию полиморфного маркера G276T гена адипонектина (*ADIPOQ*) с развитием сахарного диабета типа 2 (СД2) в кыргызской популяции.

Материалы и методы. Обследовано 107 пациентов (47 женщин, 60 мужчин) с СД2 и 181 чел. (96 женщин и 85 мужчин) без клинических и лабораторных признаков СД2 (группа сравнения). Генотипы полиморфизма G276T гена *ADIPOQ* определяли методом ПЦР-ПДРФ.

Результаты. У больных СД2 по сравнению с контрольной группой значительно снижается доля гомозиготного генотипа GG и увеличиваются доли генотипов GT и TT полиморфизма G276T гена *ADIPOQ* ($\chi^2 = 6,31$, $p = 0,043$). В группе СД2 статистически значимо чаще встречается аллель T ($\chi^2 = 4,98$, $p = 0,026$). При наличии аллеля T риск развития СД2 повышается в 1,57 раза [OR = 1,57 (1,07–2,30); $p = 0,026$], а при наличии гетерозиготного генотипа G/T — в 1,62 раза [OR = 1,62 (1,01–2,62); $p = 0,043$]. Аллель G и гомозиготный генотип G/G полиморфного локуса G276T гена *ADIPOQ* являются защитными в отношении развития СД2 [OR = 0,64 (0,43–0,93); $p = 0,026$ и OR = 0,55 (0,34–0,90); $p = 0,043$ соответственно].

Заключение. В кыргызской популяции аллель T и гетерозиготный генотип G/T полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ* ассоциированы с СД2.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, ген адипонектина, полиморфизм, ассоциация, кыргызская популяция

Введение

В последние 10 лет в Кыргызской Республике (КР) в связи с изменением образа жизни населения, характером питания, увеличением распространенности гиподинамии и ожирения из года в год растет количество людей, страдающих сахарным диабетом типа 2 (СД2). По официальным данным Республиканского медико-информационного центра Министерства здравоохранения КР, в 2013 г. в Республике зарегистрировано 15 566 случаев СД2 у мужчин и 26 506 — у женщин. В 2014 г. заболеваемость СД2 возросла, составив у мужчин — 16 997, у женщин — 27 218 случаев.

Ожирение является одним из главных факторов риска развития СД2 [3]. Жировая ткань помимо энергосберегающей и термоизоляционной функции является эндокринным органом и синтезирует большое количество различных адипокинов, участвующих во многих метаболических процессах [4]. Одним из основных гормонов жировой ткани, участвующих в регуляции углеводного и жирового обмена, является адипонектин [4, 18]. Он снижает уровень глюкозы в крови за счет активации аденозин-монофосфат зависимой протеинкиназы (АМПК) и ингибирования ацетил-КоА карбоксилазы АМПК через рецепторы AdipoR1 и AdipoR2 [12]. При активации АМПК увеличивается потребление глюкозы в мышцах и печени, а также снижается синтез глюкозы и жирных кислот в печени [12, 20]. Таким образом, адипонектин регулирует углеводный обмен, по-

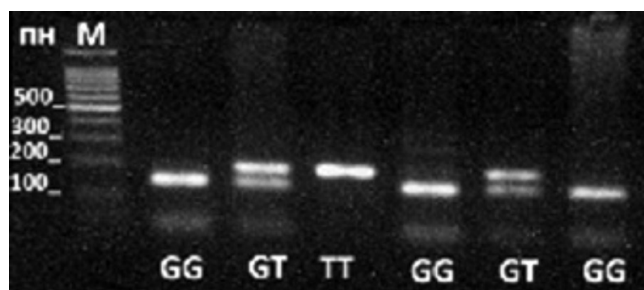
вышает чувствительность тканей к инсулину и, тем самым, защищает от развития инсулинрезистентности (ИР), хронической гипергликемии и СД2 [10, 12]. У больных с ожирением в связи со снижением в крови уровня адипонектина многократно повышается риск развития ИР, СД2, артериальной гипертензии, атеросклероза и метаболического синдрома (МС) [18, 24].

Ген адипонектина (*ADIPOQ*) расположен на третьей хромосоме в локусе 3q27 [21]. Среди полиморфных участков гена *ADIPOQ* однонуклеотидный полиморфизм G276T (*rs1501299*) является наиболее изученным и по данным ряда исследований, проведенных в разных этнических группах, ассоциирован с развитием СД2 [1, 9, 11, 15, 22, 23, 24].

Цель нашей работы — провести анализ ассоциаций полиморфного локуса G276T гена *ADIPOQ* с развитием СД2 в кыргызской популяции.

Материалы и методы

В исследование было включено 288 чел. кыргызской национальности в возрасте от 30 до 65 лет. Их них 107 чел. (47 женщин и 60 мужчин) составили больные с СД2 и 181 (96 женщин и 85 мужчин) — лица без клинических и лабораторных признаков СД2 (группа сравнения). Диагноз СД2 ставился на основании критериев ВОЗ (2009) [2]. От каждого пациента, включен-



Электрофореграмма ПЦР продуктов полиморфизма G276T гена адипонектина, гидролизованной эндонуклеазой BsmI: M – маркер молекулярной массы ДНК. Генотип GG – 148,48 п.н., GT – 196,148,48 п.н. и генотип TT – 196 п.н.

ного в данное исследование, получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Геномная ДНК выделялась из периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Идентификация аллелей полиморфного маркера G276T гена адипонектина проводилась методом полимеразой цепной реакции (ПЦР) с последующим расщеплением продуктов ПЦР рестриктазой BsmI. Для проведения ПЦР использовались праймеры 5'-GGCCTCTTTCATCACAGACC-3' и 5'-AGATGCAGCAAAGCCAAAGT-3'. Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК проводилось в 3%-ном агарозном геле.

Статистический анализ результатов исследования

Для сравнения частот генотипов и аллелей в выборках больных СД2 и здоровых использовался критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Степень риска развития СД2 оценивали по величине отношения шансов [odds ratio (OR)] с расчетом для него 95 % доверительного интервала (CI). При OR = 1 ассоциации нет, OR > 1 — положительная ассоциация заболевания с аллелем и генотипом и OR < 1 — отрицательная ассоциация. Для всех видов анализа статистически значимым считалось значение $p < 0,05$.

Результаты

В последние годы в развитии СД2 большое внимание уделяют исследованиям полиморфизмов генов, как факторов генетической предрасположенности к развитию данной патологии. В разных популяциях получены достоверные ассоциации полиморфного локуса G276T гена адипонектина с повышенным риском развития СД2 [1, 9, 11, 15, 22, 23, 24]. В нашем исследовании также выявлена ассоциация маркера G276T гена *ADIPOQ* с СД2. Как показано в таблице, у больных СД2 по сравнению с контрольной группой значительно снижается доля гомозиготного генотипа GG и увеличивается доля генотипов GT и TT ($\chi^2 = 6,31$, $p = 0,043$). В группе СД2 статистически значимо чаще встречается аллель T ($\chi^2 = 5,43$, $p = 0,026$). При наличии аллеля T риск развития СД2 повышается в 1,57 раза [OR = 1,57 (1,07–2,30); $p = 0,026$], а при наличии гетерозиготного генотипа G/T — в 1,62 раза [OR = 1,62 (1,01–2,62); $p = 0,043$]. Аллель G и генотип G/G полиморфного локуса G276T гена *ADIPOQ* являются защитными в отношении развития СД2 [OR = 0,64 (0,43–0,93); $p = 0,026$ и OR = 0,55 (0,34–0,90); $p = 0,043$ соответственно]. Таким образом, в кыргызской популяции с СД2 ассоциированы аллель T и гетерозиготный генотип G/T полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ*.

Обсуждение

Адипонектин представляет собой полипептид, состоящий из 244 аминокислот с молекулярной массой 30 кДа и экспрессирующийся в основном в жировой ткани [21]. В крови циркулируют три его изоформы, различающиеся между собой по молекулярной массе и по выполняемой ими функции [10, 17]. Адипонектин полифункциональный белок, действующий через ткане- и органоспецифические рецепторы [12]. Он участвует в регуляции углеводного обмена, снижая уровень глюкозы в крови, и нормализует жировой обмен, снижая уровень триглицеридов в крови [20, 26]. Адипонектин вовлечен также в регуляцию артериального давления и оказывает вазопротективное действие: увеличивает продукцию оксида азота II в клетках эндотелия [5], угнетает адгезию и трансмиграцию моноцитов к эндотелию сосудов, подавляет окислительный стресс и воспалительные

Распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ* в контрольной группе и у больных СД2 в кыргызской популяции

Аллели и генотипы маркера G276T гена <i>ADIPOQ</i>	СД2, n = 107 (%)	Контроль, n = 181 (%)	χ^2	p	OR	95% CI
Аллель G	148 (69)	282 (78)	4,98	0,026	0,64	0,43–0,93
Аллель T	66 (31)	80 (22)			1,57	1,07–2,30
GG	47 (44)	106 (58,6)	6,31	0,043	0,55	0,34–0,90
GT	54 (50)	70 (38,6)			1,62	1,01–2,62
TT	6 (6)	5 (2,8)			2,09	0,62–7,03

процессы [17]. Таким образом, адипонектин, участвуя в разных отрезках метаболических путей углеводного и жирового обмена, а также в продукции оксида азота, задействован в патогенезе различных компонентов МС и его осложнений.

Концентрация адипонектина в сыворотке крови колеблется в широких пределах и составляет 2–20 мкг/мл [10]. В ряде исследований [8, 11, 15] выявлено снижение уровня адипонектина у больных, страдающих ожирением, ИР, СД2, МС и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Снижение уровня адипонектина имеет обратную связь с ожирением [12], индексом НОМА [8, 16], МС [10, 13], гипертриглицеридемией [20], лептином [24] и положительную — с холестерином липопротеинов высокой плотности [18, 20]. Однако многие патогенетические механизмы снижения уровня адипонектина при различных компонентах МС остаются не до конца ясными. Предполагают, что гипoadипонектинемия может возникнуть из-за подавления экспрессии гена адипонектина лептином, фактором некроза опухоли-альфа (TNF- α) и IL-6, уровень которых при ожирении, СД2, артериальной гипертензии и МС повышается [8, 10, 23, 24].

В нашем исследовании мы не определяли в крови пациентов уровень адипонектина, однако, по данным ряда авторов, у больных с СД2 в крови уровень адипонектина был снижен по сравнению с контрольной группой в среднем более чем в 2–3 раза [8, 12, 16]. В ряде исследований показано, что аллель Т маркера G276T гена *ADIPOQ* ассоциирован с пониженным уровнем адипонектина [6, 15]. В других работах, наоборот, носительство аллеля G связано с низким уровнем адипонектина [8, 9, 13, 16].

Результаты целого ряда исследований свидетельствуют об ассоциации полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ* с СД2 типа. Так, у корейцев [11], тайванцев [22], арабов [15] и украинцев [1] с СД2 ассоциирован аллель Т полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ*, тогда как у японцев — аллель G [9].

Известно, что самые разнообразные по этиологии заболевания могут быть ассоциированы с одними и теми же полиморфизмами. Исследования, касающиеся полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ*, показывают его ассоциацию не только с СД2, но и с ожирением, ИР, МС и сердечнососудистыми заболеваниями.

Результаты метаанализа Lu J.F. с соавторами [14], включающего 18 исследований из 9 стран, показали ассоциацию полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ* с ожирением у тунисцев (OR = 2,38), американцев африканского происхождения (OR = 1,42), корейцев (OR = 1,26) и итальянцев (OR = 1,22).

В некоторых популяциях стран Азии и Европы по результатам метаанализа 25 исследований, включающих 7480 пациентов, была установлена ассоциация маркера G276T гена *ADIPOQ* с ИР [19].

Об ассоциации полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ* с МС свидетельствуют результаты метаанализа

12 китайских исследований, включающих 2,889 больных с МС и 3,304 контроля [7].

Результаты метаанализа [25], основанные на исследовании 12 465 пациентов из стран Азии, Европы и Африки, показали у отдельных этнических групп ассоциацию данного маркера с ИБС.

Таким образом, если учесть полифункциональность адипонектина, его способность прямо или косвенно участвовать в различных звеньях метаболизма липидов и углеводов, а также в сосудистом гомеостазе, то ассоциация полиморфного маркера G276T гена *ADIPOQ* с различными компонентами МС и ИБС представляется вполне логичной.

В нашем исследовании, полиморфный маркер G276T гена *ADIPOQ* в популяции кыргызов ассоциирован с СД2. Риск развития СД2 в кыргызской популяции оказался связан с носительством аллеля Т (OR = 1,57) и гетерозиготным генотипом G/T (OR = 1,62), тогда как аллель G и генотип G/G, напротив, были ассоциированы со сниженным риском развития СД2 (OR = 0,64/0,55 соответственно).

Как правило, популяции всегда различаются по многим признакам, что обусловлено разной комбинацией аллелей и генотипов. В связи с этим поиск генов-кандидатов, ассоциированных с СД2 в различных этнических группах является актуальным для практической медицины. Выявление группы лиц, генетически склонных к СД2, позволяет разработать для них индивидуальные меры профилактики, снижающие риск развития данного заболевания.

Список литературы

1. Атраментова Л.А., Горшунская М.Ю., Караченцев Ю.И. и др. Значение однонуклеотидного полиморфизма +276G/ гена адипонектина (*ADIPOQ*) в формировании риска сахарного диабета 2 типа // Проблемы эндокринной патологии. — 2010. — № 4. — С. 5–9.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом // Сахарный диабет. — 2015. — 18(1S). — С. 1–112.
3. Родионова Т.И., Тепаева А.И. Ожирение — глобальная проблема современного общества // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 12. — С. 132–136.
4. Шварц В. Жировая ткань как эндокринный орган // Проблемы эндокринологии. — 2009. — № 1. — С. 38–44.
5. Chen H., Montagnani M., Funahashi T. et al. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells // J. Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278. — P. 45021–45026.
6. Cheung C.Y., Hui E.Y., Cheung B.M. et al. Adiponectin gene variants and the risk of coronary heart disease: a 16-year longitudinal study // Eur. J. Endocrinol. — 2014. — Vol. 171. — P. 107–115.
7. Gao M., Ding D., Huang J. et al. Association of genetic variants in the adiponectin gene with metabolic syndrome: a case-control study and a systematic meta-analysis in the Chinese population // PLOS ONE | www.plosone.or. — 2013. — Vol. 8, Issue 4. — P. e58412.
8. Gonzalez-Sanchez J.L., Zabena C.F., Martinez-Larrad M.T. et al. An SNP in the adiponectin gene is associated with decreased serum adiponectin levels and risk for impaired glucose tolerance // Obes. Res. — 2005. — 13(5). — P. 807–812.

9. Hara K., Boutin P., Mori Y. et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population // *Diabetes*. — 2002. — Vol. 51, № 2. — P. 536–540.
10. Henneman P., Aulchenko Y.S., Frants R.R. et al. Genetic architecture of plasma adiponectin overlaps with the genetics of metabolic syndrome-related traits // *Diabetes Care*. — 2010. — Vol. 33. — P. 908–913.
11. Hwang J.Y., Park J.E., Choi Y.J. et al. SNP276G>T polymorphism in the adiponectin gene is associated with metabolic syndrome in patients with Type II diabetes mellitus in Korea // *European Journal of Clinical Nutrition*. — 2010. — Vol. 64. — P. 105–107.
12. Kadowaki T., Yamauchi T., Waki H. et al. Adiponectin, adiponectin receptors, and epigenetic regulation of adipogenesis // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. — 2011. — Vol. 76. — P. 257–265.
13. Li P., Jiang R., Li L. et al. Correlation of serum adiponectin and adiponectin gene polymorphism with metabolic syndrome in Chinese adolescents // *European Journal of Clinical Nutrition*. — 2015. — Vol. 69. — P. 62–67.
14. Lu J.F., Zhou Y., Huang G.H. et al. Association of ADIPOQ polymorphisms with obesity risk: a meta-analysis // *Hum. Immunol*. — 2014. — Vol. 75. — P. 1062–1068.
15. Mackawy M.H., Alzohairy M., Entisar Abd-Alfarag Ahmed., Badawy E.H. Adiponectin Gene Polymorphism and the Incidence of Type 2 Diabetes Mellitus in Obese Patients in Qassim Region, Saudi Arabia // *Journal of American Science*. — 2011. — Vol. 7, № 12. — P. 432–443.
16. Mackevics V., Heid I.M., Wagner S.A. et al. The adiponectin gene is associated with adiponectin levels but not with characteristics of the insulin resistance syndrome in healthy Caucasians // *European Journal of Human Genetics*. — 2006. — Vol. 14. — P. 349–356.
17. Ouchi N., Kihara S., Arita Y. et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte derived plasma protein adiponectin // *Circulation*. — 1999. — Vol. 100. — P. 2473–2476.
18. Ouchi N., Ohashi K., Shibata R., Murohara T. Adipocytokines and obesity-linked disorders // *Nagoya J. Med. Sci.* — 2012. — Vol. 74, № 1–2. — P. 19–30.
19. Ouyang S., Cao D., Liu Z. et al. Meta-analysis of the association of ADIPOQ G276T polymorphism with insulin resistance and blood glucose // *Endocrine* — 2014. — Vol. 47. — P. 749–757.
20. Qiao L., Zou C., van der Westhuyzen D.R., Shao J. Adiponectin reduces plasma triglyceride by increasing VLDL triglyceride catabolism // *Diabetes* — 2008. — Vol. 57. — P. 1824–1833.
21. Takahashi M., Arita Y., Yamagata K. et al. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin // *International Journal of Obesity*. — 2000. — Vol. 24. — P. 861–868.
22. Tsai M.K., Wang H.D., Shiang J.Ch. et al. Sequence Variants of ADIPOQ and Association with Type 2 Diabetes Mellitus in Taiwan Chinese Han Population // *Sequence Variants of ADIPOQ and Association with Type 2 Diabetes Mellitus in Taiwan Chinese Han Population* // *The Scientific World Journal*. — 2014, Article ID 650393. doi:10.1155/2014/650393
23. Tu Y., Yu Q., Fan G. et al. Assessment of type 2 diabetes risk conferred by SNPs rs2241766 and rs1501299 in the ADIPOQ gene, a case/control study combined with meta-analyses // *Mol. Cell. Endocrinol.* — 2014. — Vol. 396, № 1–2. — P. 1–9.
24. Yang W.S., Yang Y.C., Chen C.L. et al. Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2007. — Vol. 86(2). — P. 509–513.
25. Yang Y., Zhang F., Ding R. et al. Association of ADIPOQ gene polymorphisms and coronary artery disease risk: A meta-analysis based on 12 465 subjects // *Thromb Res.* — 2012. — Vol. 130. — P. 58–64.
26. Zhao T., Zhao Z. Genetic effects of adiponectin on blood lipids and blood pressure // *Clin. Endocrinol.* — 2011. — Vol. 74. — P. 214–222.

Polymorphism G276T of the adiponectin gene is associated with type 2 diabetes mellitus in Kyrgyz Population

Isakova J.T.¹, Talaibekova E.T.¹, Asambaeva D.A.¹, Kerimkulova A.S.², Lunegova O.S.², Aldashev A.A.¹

¹ — Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyz Republic, Togolok Moldo St. 3, e-mail: jainagul@mail.ru

² — National Center of Cardiology and Internal Medicine Named After Academician M. Mirrakhimov, Bishkek, Kyrgyz Republic, Togolok Moldo St. 3

Aim: To study an association of the G276T polymorphism of the adiponectin (*ADIPOQ*) gene with type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Kyrgyz Population.

Materials and Methods: We examined 107 patients (female — 47, male — 60) with T2DM and 181 apparently health controls (female — 96, male — 85). The genotypes for adiponectin polymorphism G276T were determined by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

Results: The frequency of the variant T allele and genotype GT and TT of 276 *ADIPOQ* gene was significantly higher among T2DM patients compared with control subjects ($\chi^2 = 4,98$; $p = 0,026$ for allele; $\chi^2 = 6,31$, $p = 0,043$ for genotype). Subjects having the T-allele of SNP276 had 1,57-fold [OR = 1,57 (1,07–2,30); $p = 0,026$] higher risk of developing T2DM compared with subjects carrying neither of these alleles. Individuals carrying the G/T genotype of 276 *ADIPOQ* gene had 1,62 fold [OR = 1,62 (1,01–2,62); $p = 0,043$] higher risk of T2DM than subjects homozygous for the common GG-genotype. The G allele as well as homozygous genotype G/G of the polymorphic locus gene are significantly protective against the development of type 2 diabetes [OR = 0,64 (0,43–0,93); $p = 0,026$ and OR = 0,55 (0,34–0,90); $p = 0,043$, respectively].

Conclusion: In kyrgyz population the T allele and G/T genotype of polymorphism loci G276T of *ADIPOQ* gene is associated with T2DM.

Key words: type 2 diabetes mellitus, adiponectin gene, polymorphism, association, kyrgyz population