

УДК 616.379-008.64 : 575.174.015.3

## АСОЦІАЦІЯ АЛЕЛЯ 12Pro ПОЛІМОРФІЗМУ rs1801282 ГЕНА PPARG З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

**С.В. Зяблицев<sup>1</sup>, В.Я. Мокрій<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ

<sup>2</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ



**Зяблицев Сергій Володимирович**

Д-р мед. наук, професор, завідувач відділу патофізіології, імунології та трансплантології  
01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13-А  
Тел./факс: (044) 243-66-26  
E-mail: zsv@endosurg.com.ua



**Мокрій Володимир Ярославович**

асистент кафедри патофізіології  
м. Київ, бульвар Тараса Шевченка, 13/7  
Тел./факс: (096) 778-27-22  
E-mail: mokriy.vol@gmail.com

### ВСТУП

ВООЗ прогнозує, що до 2030 р. цукровий діабет (ЦД) стане сьомою за поширеністю причиною смертності в світі [1], причому ЦД 2 типу спостерігається у 90% хворих [2]. Для України ситуація аналогічна, на сьогодні нараховується понад 1,3 млн хворих, а реальна поширеність ЦД 2 типу щонайменше втричі вища, що підтверджують контрольні епідеміологічні дослідження [3, 4]. Про це ж свідчить прийняття державної цільової соціальної програми «Цукровий діабет до 2018 року». ЦД 2 типу відноситься до захворювань із спадковою схильністю та розвивається у пацієнтів з відповідним генотипом (полігенне захворювання) за умови провокативного впливу модифікованих факторів зовнішнього середовища [5, 6]. Саме тому важливість генетичних факторів у патогенезі ЦД 2 типу не викликає жодних сумнівів [6, 7].

У 1997 р. С.С. Yen та співавт. описали зв'язок поліморфізму Pro12Ala (rs1801282) гена PPARG з підвищеним ризиком розвитку ЦД 2 типу [8]. Даний ген кодує рецептор проліфератора пероксисом гамма 2 типу (PPARG), який належить до ядерних трансформаційних рецепторів, що входять до групи факторів транскрипції. У результаті його активації і зв'язування ретиноїдним X-рецептором формується гетеродимер, який взаємодіє із специфічними послідовностями ДНК, синтезуючи білки, що сприяють прискоренню процесів адипогенезу та беруть участь в регуляції обміну жирних кислот [9]. Доведено, що пацієнти з генотипом Pro12Pro відрізняються більшою резистентністю до інсуліну та

ожирінням, а ризик розвитку ЦД 2 типу у порівнянні з носіями генотипу Ala12Ala вищий на 20% [10]. Для української популяції аналогічні дослідження не проводились.

**Мета роботи** – з'ясування наявності асоціативного зв'язку поліморфізму Pro12Ala (rs1801282) гена PPARG з підвищеним ризиком розвитку ЦД 2 типу в українській популяції.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилось за участю 88 хворих на ЦД 2 типу (група випадків). Серед них було 33 чоловіків та 55 жінок у віці від 38 до 83 років з тривалістю захворювання від 4 місяців до 25 років. Контрольну групу склали пацієнти, котрі проходили обстеження, але діагнозу ЦД 2 типу встановлено не було (50 осіб, розподіл яких за статтю та віком відповідав контрольній групі).

Для молекулярно-генетичного дослідження була використана венозна кров, забір якої проводили в стерильних умовах у вакутайнери (Sarstedt, Німеччина) об'ємом 2,5 мл. З метою виділення геномної ДНК були використані реактиви PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA, виробництва INVITROGEN (США). Для аналізу поліморфного ДНК-локусу використовували уніфіковану тест-систему TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США).

Локалізація досліджуваного поліморфізму rs1801282 гена PPARG – Chr.3:12393125 on NCBI Build 37. Сіквенс ділянки, що аналізується, – ААСТСТGGGAGATTCTCCTATTGAC[C/G]

CAGAAAGCGATTCCCTTCACTGATAC, поліморфний кодон – CCA/GCA. Такий поліморфізм являє собою просту нуклеотидну заміну С на G, що призводить до заміни амінокислоти пролін на аланін у 12 положенні білка  $\gamma$ -рецептора, який активує проліферацію пероксисом (PPARG). Алель С є предковою, а алель G – мінорною. За даними MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org/node/506>), частота останньої складає  $T=0,0703/352$ . Статистичні розрахунки здійснено в середовищі прикладних програм Statistica 10 (StatSoft, Inc, USA).

Робота виконана в Українському науково-практичному центрі ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (м. Київ) у рамках НДР МОЗ України «Патогенез молекулярно-генетичних порушень жирового та вуглеводного обміну при цукровому діабеті 2 типу та оптимізація цукрознижувальної терапії».

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Вважають, що поліморфізм Pro12Ala гена PPARG не тільки асоційований із захворюванням на ЦД 2 типу [11, 12], а й впливає на ліпідний метаболізм шляхом підвищення активності ацетил-КоА-синтази, інтенсифікації перекисного окислення ліпідів та активації проліферації адипоцитів.

У хворих групи випадків розподіл генотипів був наступним (рис. 1): Pro12Pro (гомозигота за мажорним алелем) – 84%, Pro12Ala (гетерозигота) – 16% та Ala12Ala (гомозигота за мінорним алелем) – 0%. У контрольній групі генотип Pro12Pro був виявлений у 72% осіб, Pro12Ala – у 24% та Ala12Ala – у 4%.

Частота предкового генотипу Pro12Pro у хворих на ЦД 2 типу була на 16,6% вища порівняно з контрольною групою, тоді як гетерозиготний

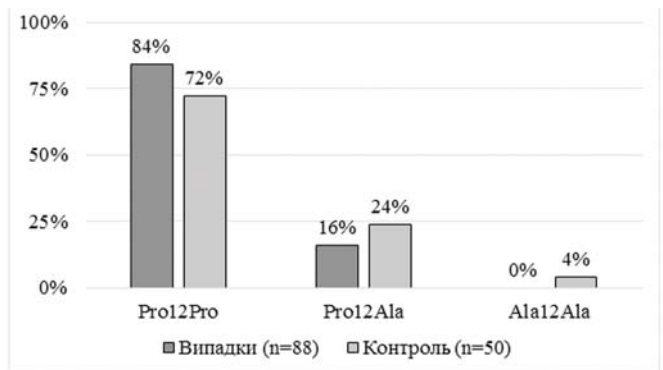


Рис. 1. Частота розподілу генотипів поліморфізму Pro12Ala гена PPARG ( $p(\chi^2)=0,075$ ).

генотип Pro12Ala спостерігався у 1,5 раза частіше в осіб контрольної групи. Однак, при оцінюванні отриманих даних щодо частоти для кожного з генотипів між групою випадків та контрольною групою статистичної різниці за критерієм Фішера виявлено не було.

Достовірність різниці за критерієм  $\chi^2$  у розподілі генотипів гена PPARG (Pro12Ala), залежно від наявності або відсутності у пацієнтів ЦД 2 типу, і величини відношення шансів (OR) залежно від генотипу наведені у табл. 1.

Залежності у розподілі генотипів поліморфізму Pro12Ala гена PPARG між наявністю або відсутністю захворювання на ЦД 2 типу не виявлено ( $p(\chi^2)=0,07$ ) за умов відповідності тесту Харді-Вайберга (HWE) для контролю та випадків (відповідно,  $\chi^2=0,57$ ;  $p=0,45$  та  $\chi^2=0,66$ ;  $p=0,42$ ).

Надалі був проведений аналіз статистичної достовірності впливу ЦД 2 типу на розподіл алелей поліморфізму Pro12Ala гена PPARG між групами та розрахунок величини відношення шансів (OR).

У результаті оцінки розподілу алелей 12Pro та 12Ala (рис. 2) між групою випадків та контрольною була виявлена статистично значуща різниця: серед

Таблиця 1

#### Достовірність різниці розподілу генотипів гена PPARG (Pro12Ala) ( $p(\chi^2)$ ) та величини відношення шансів (OR) залежно від генотипу

Генотипи	Випадки (n=88)	Контроль (n=50)	$\chi^2$	$p(\chi^2)$	OR	95% достовірний інтервал
Pro12Pro	0,841	0,720	5,21	0,07	2,06	0,89–4,77
Pro12Ala	0,159	0,240			0,60	0,25–1,42
Ala12Ala	0,000	0,040			0,11	0,01–2,33

хворих на ЦД 2 типу алель 12Pro зустрічалась у 92 проти 84% у контрольній групі; розподіл частоти алеля 12Ala між групами становив 8 та 16% відповідно. Ця різниця була статистично значимою ( $p(\chi^2)=0,04$ ), що вказувало на наявність асоціації алельного поліморфізму Pro12Ala з розвитком ЦД 2 типу.

Аналіз мультиплікативної моделі наслідування (табл. 2) показав, що достовірність асоціації алеля 12Pro із захворюванням на ЦД 2 типу підтверджується показником відношення шансів, який склав 2,20 (CI=1,03–4,73) проти OR=0,45 (CI=0,21–0,97) для алеля 12Ala. Отже, ризик захворювання на ЦД 2 типу більш ніж удвічі вище у носіїв алеля 12Pro поліморфізму Pro12Ala гена PPARG.

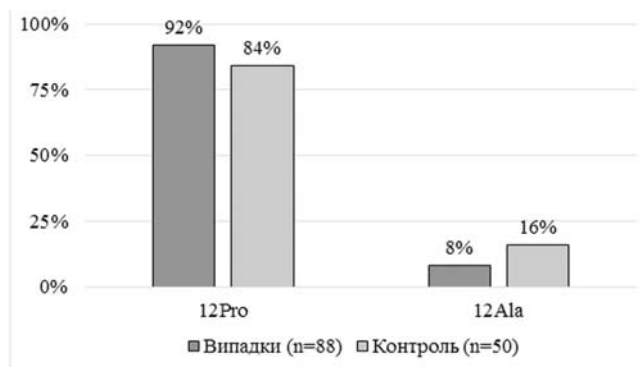


Рис. 2. Частота розподілу алелей поліморфізму Pro12Ala гена PPARG ( $p(\chi^2)=0,04$ ).

Таблиця 2

Достовірність різниці розподілу алелей поліморфізму Pro12Ala гена PPARG ( $p(\chi^2)$ ) та величини відношення шансів (OR)

Алелі	Випадки (n=176)	Контроль (n=100)	$\chi^2$	p	OR	95% достовірний інтервал
12Pro	0,920	0,840	4,26	0,04	2,20	1,03–4,73
12Ala	0,080	0,160			0,45	0,21–0,97

### ВИСНОВКИ

1. Вірогідного асоціативного зв'язку поліморфних генотипів Pro12Ala (rs1801282) гена PPARG із захворюванням на ЦД 2 типу в наших дослідженнях не виявлено.

2. Показана наявність вірогідної асоціації між алелем 12Pro цього поліморфізму та захворюванням на ЦД 2 типу. Ризик захворювання був більш ніж удвічі вищим у носіїв цього алеля. Наявність алеля 12Ala, навпаки, знижувала ризик захворювання на ЦД 2 типу.

### ЛІТЕРАТУРА

- Mathers C.D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 / C.D. Mathers, D. Loncar // PLoS Med. – 2006. – 3 [11]. – P. 442.
- Диабет – информационный бюллетень ВОЗ. – 2015 г. – № 312, январь [http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/ru/].
- Паньків В.І. Шляхи удосконалення тактики надання допомоги хворим на ЦД 2 типу в амбулаторних умовах / В.І. Паньків // Український науково-практичний центр ендокринної хірургії,

трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України. – 2015.

- Соколова Л.К. Сахарный диабет 2 типа. Роль семейного врача / Л.К. Соколова // УКР. МЕД. ЧАСОПИС. – 2012. – [87] I/II.
- Клюева С.К. Мультифакториальные заболевания / С.К. Клюева. – СПб.: МАПО. – 2002. – с. 144.
- Дедов И.И. Значение результатов полногеномных исследований для первичной профилактики сахарного диабета 2 типа и его осложнений. Персонализированный подход / И.И. Дедов, О.М. Смирнова, И.В. Кононенко // Сахарный диабет. – 2014. – № 2. – С. 10–19.
- Бондарь И.А. Генетические основы сахарного диабета 2 типа / И.А. Бондарь, О.Ю. Шабельникова // Сахарный диабет. – 2013. – № 4. – С. 11–16.
- Yen C.J. Molecular scanning of the human Peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR $\gamma$ 2 missense mutation / C.J. Yen, B.A. Beamer, C. Negri [at al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 1997. – Vol. 241, № 2. – P. 270–274.
- Deeb S.S. A Pro12Ala substitution in PPAR $\gamma$ 2

associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity / S.S. Deeb, L. Fajas, M. Nemoto [et al.] // Nat. Genet. – 1998. – Vol. 20, № 3. – P. 284–287.

10. *Altshuler D.* The common PPAR $\gamma$  Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes / D. Altshuler, J.N. Hirschhorn, M. Klannemark [et al.] // Nat. Genet. – 2000. – Vol. 26, № 1. – P. 76–80.
11. *Sanghera D.K.* PPAR $\gamma$  and ADIPOQ gene polymorphisms increase type 2 diabetes mellitus risk in Asian Indian Sikhs: Pro12Ala still remains as the strongest predictor / D.K. Sanghera, F.Y. Demirci, L. Been [et al.] // Metabolism. – 2010. – Vol. 59, № 4. – P. 492–501.
12. *Buzzetti R.* The common PPAR-gamma2 Pro12Ala variant is associated with greater insulin sensitivity / R. Buzzetti, A. Petrone, M.C. Ribauda [et al.] // European Journal of Human Genetics. – 2012. – Vol. 12. – P. 1050–1054.

## РЕЗЮМЕ

**Асоціація алеля 12Pro поліморфізму rs1801282 гена PPAR $\gamma$  з цукровим діабетом 2 типу****С.В. Зяблицев, В.Я. Мокрий**

**Мета роботи** – проаналізувати розподіл поліморфних генотипів та алелей при цукровому діабеті (ЦД) 2 типу та дослідити наявність асоціативного зв'язку поліморфізму Pro12Ala (rs1801282) гена PPAR $\gamma$  з розвитком цього захворювання в українській популяції.

**Матеріали та методи.** Дослідження проведено за участю 88 хворих, контрольну групу склали 50 пацієнтів. Для молекулярно-генетичного дослідження була використана методика PCR in real time. Для аналізу поліморфного ДНК-локусу використовували уніфіковану тест-систему TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США).

**Результати та обговорення.** При ЦД 2 типу генотип Pro12Pro зустрічався у 84% хворих проти 72% у контролі; генотип Pro12Ala – у 16 проти 24%; генотип Ala12Ala у хворих не зустрічався (в контролі – у 4%). Алель 12Pro зустрічалась у 92% хворих проти 84% у контролі, а алель 12Ala – у 8% проти 16% у контролі. Ця різниця була статистично значущою для алелей ( $p(\chi^2)=0,04$ ), але не для генотипів ( $p(\chi^2)=0,075$ ). Значимого зв'язку генотипів із захворюванням на ЦД 2 типу виявлено не було ( $p=0,07$ ). Натомість така асоціація ( $p=0,04$ ) була виявлена для алелей: 12Pro (OR=2,20; CI=1,03–4,73) та 12Ala (OR=0,45; CI=0,21–0,97).

**Висновки.** В даному дослідженні достовірної асоціації генного поліморфізму Pro12Ala (rs1801282) гена PPAR $\gamma$  із захворюванням на ЦД 2 типу в українській популяції не виявлено, проте була виявлена статистично значуща асоціація для алеля 12Pro, наявність якої більш ніж удвічі підвищувала ризик захворювання, тоді як наявність алеля 12Ala такий ризик удвічі знижувала.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, поліморфізм Pro12Ala (rs1801282) гена PPAR $\gamma$ .

## РЕЗЮМЕ

**Асоціація алелі 12Pro поліморфізму rs1801282 гена PPAR $\gamma$  с сахарным диабетом 2 типа****С.В. Зяблицев, В.Я. Мокрий**

**Цель работы** – проанализировать распределение полиморфных генотипов и аллелей при сахарном диабете (СД) 2 типа и исследовать наличие ассоциативной связи полиморфизма Pro12Ala (rs1801282) гена PPAR $\gamma$  с развитием этого заболевания в украинской популяции.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось с участием 88 больных, контрольную группу составили 50 пациентов. Для молекулярно-генетического исследования была использована методика PCR in real time. Для анализа полиморфного ДНК-локуса использовали унифицированную тест-систему TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США).

**Результаты и обсуждение.** При СД 2 типа генотип Pro12Pro встречался у 84% больных против 72% в контроле; генотип Pro12Ala – у 16 против 24%; генотип Ala12Ala у больных не встречался (в контроле – у 4%). Аллель 12Pro встречалась у 92% больных против 84% в контроле, а аллель 12Ala – у 8 против 16% в контроле. Эти различия были статистически значимыми для аллелей ( $p(\chi^2)=0,04$ ), но не для генотипов ( $p(\chi^2)=0,075$ ). Значимой связи генотипов с заболеванием СД 2 типа не выявлено ( $p=0,07$ ). Однако такая ассоциация ( $p=0,04$ ) была обнаружена для аллелей: 12Pro (OR=2,20; CI=1,03–4,73) и 12Ala (OR=0,45; CI=0,21–0,97).

**Выводы.** В данном исследовании значимой ассоциации генного полиморфизма Pro12Ala (rs1801282) гена PPAR $\gamma$  с заболеванием СД 2 типа в украинской популяции не обнаружено. При этом обнаружена статистически значимая ассоциация для аллели 12Pro, наличие которой более чем в два раза повышало риск заболевания, тогда как наличие аллели 12Ala такой риск в два раза снижало.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, полиморфизм rs1801282 (Pro12Ala) гена PPARG.

#### SUMMARY

#### ASSOCIATION BETWEEN ALLELE 12Pro OF rs1801282 POLYMORPHISM GENE PPARG AND DIABETES MELLITUS TYPE 2

*S. V. Ziablytsev, V. Y. Mokrii*

**Aim** – to investigate the presence of polymorphisms and alleles in patients with type 2 diabetes mellitus (DM) and analyze the link of polymorphism Pro12Ala (rs1801282) in PPARG gene and incidence of diabetes type 2 in the Ukrainian population.

**Materials and methods.** The study was conducted in 88 patients with DM type 2, the control group consisted of 50 patients. For molecular genetic research PCR in real time was used. For the analysis of polymorphic DNA loci standardized test system TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (USA) was used.

**Results and discussion.** In type 2 DM genotype Pro12Pro was found in 84% of patients versus 72% in

the control group; genotype Pro12Ala - 16% vs. 24%; Ala12Ala genotype in patients was not recorded in any patient (in control - 4%). 12Pro allele was found in 92% of patients versus 84% in the control, allele 12Ala - 8% vs. 16% in control. These differences were statistically significant for alleles ( $p(\chi^2)=0,04$ ), but not for genotypes ( $p(\chi^2)=0,075$ ). Any link between genotypes and DM type 2 was not recorded ( $p=0,07$ ). Instead, such an association ( $p=0,04$ ) was found for alleles: 12Pro (OR=2,20; CI=1,03-4,73) and 12Ala (OR=0,45; CI=0,21-0,97).

**Conclusions.** In this study the probable association of gene polymorphism Pro12Ala (rs1801282) gene PPARG with the DM type 2 morbidity in the Ukrainian population was not found, but statistically significant association for allele 12Pro was evident, the presence of which increases more than 2 times the risk of disease, whereas the presence of the allele 12Ala reduced this risk.

**Key words:** diabetes mellitus type 2, polymorphism rs1801282 (Pro12Ala) gene PPARG.

*Дата надходження до редакції 16.08.2016 р.*