

($p=0.03$) in ZFAND6 gene, rs7172432 ($p=0.04$) in C2CD4A gene. On the second stage we found a biallelic combination of A allele rs8050136 in FTO gene and A allele rs7172432 in C2CD4R gene that was associated with T2D risk. Remarkable, the combined effect (association) of rs8050136 and rs7172432 was stronger (OR=1,97; $p=0.006$) than that of each SNP alone.

Conclusion. The biallelic combination of A allele rs8050136 in FTO gene and A allele rs7172432 in C2CD4R gene can be used as a genetic marker of T2D.

KEYWORDS

Genetic markers; type 2 Diabetes; russian population.

ПОЛИМОРФНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА В РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

К.А. Вахромеева¹, Л.А. Суплотова¹, В.В. Носиков²

¹ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный медицинский университет», Тюмень, Российская Федерация

²ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Российская Федерация

Актуальность. В настоящее время сахарный диабет 2-го типа (СД2) определяется как полигенное заболевание, развитие которого обусловлено совместным действием многих генов и их комбинаций. В ходе многочисленных исследований генетических основ СД2 во многих популяциях мира установлены несколько десятков рискованных локусов генов, что является важным этапом к более глубокому пониманию механизмов возникновения СД2.

Цель — изучить ассоциации полиморфных генетических маркеров и их комбинаций с сахарным диабетом 2-го типа в русской популяции Тюменской области.

Материал и методы. В исследование включены 192 неродственных испытуемых, из которых 96 участников имели СД2, а 96 здоровых индивидов составляли группу контроля. Постановку клинического диагноза СД2 проводили согласно критериям ВОЗ (1999). Генотипирование полиморфных маркеров выполнено по протоколу Bead Chip Golden Gate с использованием синтезированного ДНК-биочипа («IlluminaInc», США), содержащего 96 однонуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных в СД2, нарушениями углеводного и липидного обмена, артериальной гипертензией в европейских и азиатских популяциях. Статистический анализ данных проводился с помощью online программы «Калькулятор для расчета статистики в исследованиях «случай—контроль» (http://gen-exp.ru/calculator_or.php) и оригинального программного обеспечения APSampler (<http://code.google.com/p/apsampler/>), использующее метод Монте-Карло марковскими цепями и байесовскую непараметрическую статистику.

Результаты. На первом этапе исследования установлены ассоциации с развитием СД2 полиморфных маркеров rs8050136 ($p=0,05$) и rs11642841 ($p=0,04$) гена FTO, rs571312 ($p=0,002$) гена MC4R, rs1470579 ($p=0,04$) гена IGF2BP2, rs2943641 ($p=0,03$) и rs2943634 ($p=0,03$) гена IRS1, rs163184 ($p=0,03$) гена KCNQ1, rs11924032 ($p=0,04$) гена SLC2A2, rs11634397 ($p=0,03$) гена ZFAND6, rs7172432 ($p=0,04$) гена C2CD4A. На втором этапе в ходе комплексного анализа кумулятивного эффекта носительства комбинаций двух и более рискованных генетических маркеров, выявлена ассоциация с СД2 комбинации аллеля А маркера rs11642841 гена FTO и аллеля А маркера rs7172432 гена C2CD4A. При этом выявленная комбинация аллелей ха-

рактеризуется большей значимостью ассоциации (OR=1,97; $p=0,006$), чем входящие в сочетание аллели по одиночке (критерий минимального множества аллелей).

Выводы. Комбинацию аллеля А полиморфного маркера rs8050136 гена FTO и аллеля А полиморфного маркера rs7172432 гена C2CD4A можно отнести к дополнительным значимым маркерам генетического риска СД2 в русской популяции Тюменской области.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Генетические маркеры; сахарный диабет 2-го типа; русская популяция.

★ ★ ★

doi: 10.14341/probl201662511-12

AN ANALYSIS OF THE ASSOCIATION BETWEEN A POLYMORPHISM RS5219 OF KCNJ11 AND GFR IN CKD DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES IN RUSSIAN POPULATION

A.V. Zheleznyakova¹, O.K. Vikulova¹, S.A. Saveleva¹, V.V. Nosikov², M.V. Shestakova¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

²State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, Moscow, Russian Federation

Background. Chronic kidney disease is one of the most serious diabetic complications, which end-stage leads to a dramatic decline of renal function and needs for renal replacement therapy. Due to the progressive nature of CKD and the limited efficacy of treatment for advanced stages the prediction of risks and diagnostics on preclinical stage are of great importance. All of the above determines the high relevance of search for genetic markers predict the chronic kidney disease (CKD) development.

The aim of our study was to investigate association between polymorphic marker (PM) of gene involved in insulin secretion with development of CKD in type 2 diabetic (T2D) patients. Polymorphism of KCNJ11 gene is associated with different phenotypes of glycemic disorders: neonatal diabetes, hyperinsulinemia, reduced insulin secretion and increased risk of type 2 diabetes. This gene coding Kir6.2 subunit of ATP-dependent potassium channels. The pathogenesis of it's involvement in renal damage development referred to the fact that this type of potassium channels found not only in the beta-cells, but also in smooth muscle cells of blood vessels, and therefore might have an effect on risk of vascular complications, including CKD.

Material and methods. We enrolled 444 T2D patients. PM rs5219 in KCNJ11 gene was analysed among patients divided in 2 groups: with and without CKD ($n=123/321$) based on glomerular filtration rate (GFR) $<$ and ≥ 60 ml/min/1,73 m² calculated by MDRD formula. PM studied using PCR. Differences in alleles/genotypes frequencies were assessed by χ^2 and odds ratio (OR) were calculated. The study was approved by local ethical committee; informed consent was obtained from all the patients.

Results. We studied the main clinical parameters: age, HbA1c, serum levels of cholesterol and triglycerides, BP between the groups. We observed significant differences in alleles/genotypes distribution of rs5219 in KCNJ11 gene between groups with and without CKD: the prevalence of allele C and genotype CC in patients without CKD: OR=0.53, 95%CI: 0,40—0,72 and OR=0.46, 95% CI: 0.27—0.79, respectively;

while allele T and genotype TT did as risk factors: $\chi^2=17,33$; $p=0,0002$; OR=1,87, 95% CI: 1,39–2,53; genotype TT OR=2,39, 95% CI: 1,52–3,76.

Conclusions. We conclude that T2D patients might have genetic susceptibility to CKD development caused by polymorphism rs5219 of *KCNJ11* gene with protective role of allele C and genotype CC and risk allele/genotype is T/TT.

KEYWORDS

Chronic kidney disease; type 2 diabetes; *KCNJ11* gene.

ПОЛИМОРФНЫЙ МАРКЕР RS5219 ГЕНА *KCNJ11* ПОКАЗАЛ ДОСТОВЕРНУЮ АССОЦИАЦИЮ СО СКОРОСТЬЮ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

А.В. Железнякова¹, О.К. Викулова¹,
С.А. Савельева¹, В.В. Носиков², М.В. Шестакова¹

¹ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

²ГНЦ РФ ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Российская Федерация

Хроническая болезнь почек (ХБП) является одним из самых серьезных осложнений сахарного диабета (СД), при терминальных стадиях которого требуется лечение методами заместительной почечной терапии. Поиск маркеров генетической предрасположенности к ХБП представляет особую клиническую значимость для снижения частоты прогрессирования за счет возможности прогнозирования патологии на раннем доклиническом этапе, когда начальные патологические изменения потенциально обратимы. В связи с чем целью исследования было изучить ассоциацию полиморфного маркера гена, вовлеченного в процессы секреции инсулина, с основным маркером ХБП — скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) у больных СД2. Продукт гена *KCNJ11* — белок Kir6.2 — является одной из двух субъединиц АТФ-зависимых калиевых каналов. Маркер rs5219 гена *KCNJ11* ассоциирован с различными фенотипами нарушений углеводного обмена: от гиперинсулинемии до снижения секреции инсулина при СД2. Данный тип калиевых каналов найден в клетках гладкой мускулатуры сосудов, что указывает на патогенетическую связь данного маркера с патологией почек.

Материал и методы. Обследованы 444 пациента с СД2. Исследовали ПМ rs5219 гена *KCNJ11*. Идентификация аллелей проводилась методом полимеразной цепной реакции. Распределение частот генотипов оценивали в группах с наличием и отсутствием ХБП ($n=123/321$), оцененной по СКФ (MDRD) $<$ и ≥ 60 мл/мин/1,73 м². Статистический анализ проводили с использованием χ^2 и отношения шансов (OR). Достоверными считали различия при $p<0,05$. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом, информированное согласие получено от всех пациентов.

Результаты. В группах были проанализированы основные клинические показатели: пол, возраст, уровень HbA_{1c}, показатели липидного обмена и артериального давления, индекс массы тела. Выявлены достоверные различия в распределении аллелей/генотипов маркера rs5219 гена *KCNJ11* в группах с наличием и отсутствием ХБП. Аллель С и генотип СС снижает риск развития ХБП, ока-

зывая защитное действие OR=0,53 (95% ДИ 0,40–0,72) и OR=0,46 (95% ДИ 0,27–0,79) соответственно. В то время как аллель Т и генотип ТТ встречался чаще в группе пациентов со сниженной СКФ, он предрасполагает к развитию ХБП $\chi^2=17,33$; $p=0,0002$; OR=1,87 (95% ДИ 1,39–2,53); генотип ТТ OR=2,39 (95% ДИ 1,52–3,76).

Выводы. По данным нашего исследования, развитие ХБП у пациентов с СД2 генетически детерминировано и ассоциировано с ПМ rs5219 гена *KCNJ11* со снижением СКФ, где генотип СС имеет защитные факторы, а генотип ТТ оказывает предрасполагающее влияние на развитие патологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Хроническая болезнь почек; сахарный диабет 2-го типа; ген *KCNJ11*.

★ ★ ★

doi: 10.14341/probl201662512-13

ASSESSMENT OF SGLT2 INHIBITORS ON KIDNEY MORPHOLOGY AND ALBUMIN EXCRETION IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 1

D.A. Lebedev, N.P. Likhonosov, T.P. Tuchina,
A.Y. Babenko

Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russian Federation

Background. Recently, as the therapy of diabetes mellitus, have been approved several members of a new class of drugs — SGLT2 inhibitors. SGLT2 inhibitors reduce glycemia and normalize renal perfusion. However renoprotective effect is still the subject of research.

The aim of this study was to evaluate the effect of SGLT2 inhibitors on renal tissue of rats with experimental type 1 diabetes (DM).

Material and methods. This study was conducted on 22 white male rats at the age of 10 months with streptozotocin — induced diabetes. For the selection of the rats in the experiment were evaluated glycemia. The criteria for diabetes was blood glucose levels >7 mmol/L and/or a positive glucose tolerance test. Rats were divided into 3 groups: 1 group (healthy control) — a group of 10 animals without DM, 2 group — (diabetic control) 6 animals with DM receiving insulin NPH; 3—6 animals with DM receiving insulin NPH and dapagliflozin 0.1 mg/kg for 4 weeks. At the end of the study, animals were kept in metabolic cages and 24 hour urine was collected for estimation of albuminuria. Next animals were removed from the experiment, and kidney tissue was sampled for morphological evaluation. Sections were stained with haematoxylin and eosin (H&E), and PAS reaction stains for histopathological examination. Statistical significance of differences was assessed and linkages by standard methods of nonparametric statistics.

Results. Sections of kidney from control group had classical structure of renal tissue. In contrast, histological sections from rats treated with insulin had showed cortical glomerulosclerosis, proliferation of mesangial cells and narrowed Bowman's spaces. In most of the proximal convoluted tubules was observed excessive hypertrophy, vacuolization and pyknotic nuclei. The kidneys of rats treated with dapagliflozin and insulin had a lower severity