

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА VEGF ПРИ РАЗВИТИИ
ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Шишко О.Н., Мохорт Т.В., Гончар А.Л*., Цапаева Н.Л.**,
Константинова Е.Э.***

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»
кафедра эндокринологии, *Институт генетики и цитологии Национальной
академии наук Беларуси, **УО «Белорусский государственный медицинский
университет» 3-я кафедра внутренних болезней, ***Республиканский научно-
практический центр «Кардиология»
г. Минск*

Актуальность

Проблема профилактики, диагностики и лечения сосудистых осложнений сахарного диабета является одной из наиболее обсуждаемых. Наличие у пациента нарушений углеводного обмена: сахарный диабет 2 типа (СД2), нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), нарушение гликемии натощак (НГН) повышает риски развития ангиопатий. Традиционными факторами, предрасполагающими к развитию диабетических осложнений, являются курение, артериальная гипертензия, дислипидемия, гиперинсулинемия, ожирение (3). У пациентов с впервые выявленным СД2 диагностируют в 35% случаев ретинопатию, в 12% - полинейропатию, в 2% выявляют протеинурию (10). Также отмечено, что даже небольшие колебания гликемии ассоциированы с развитием и прогрессированием нефропатии и ретинопатии. В тоже время, у некоторых пациентов при длительном отсутствии компенсации не развиваются ангиопатии. Возникает вопрос: что является дополнительным фактором, инициирующим каскад реакций, приводящих к развитию ангиопатий? Среди предполагаемых факторов негативного прогноза в последние годы на первый план выходит влияние генетических факторов.

Известно более 35 генов и более 100 их полиморфизмов, участвующих в патогенезе сосудистой патологии при СД (3) и включающих гены, ответственные за синтез компонентов ренин-ангиотензиновой системы (РАС), а также генов VEGF (эндотелиальный фактор роста сосудов), TGFB-1 (трансформирующий ростовой фактор бета-1), PAI-1 (ингибитор активатора плазминогена) и др.

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor, эндотелиальный фактор роста сосудов) обладает высокой митогенной активностью в отношении эндотелиальных клеток сосудов, активирует ангиогенез, поддерживает выживание «незрелых» сосудов - и увеличивает проницаемость мелких

кровеносных сосудов (1). Однако только наличие у пациента определенного генотипа позволит предрасполагает к развитию сосудистого осложнения. Так в исследовании Nikzami A. и соавт. выявили, что генотип G/G ассоциирован с развитием диабетической нефропатии (9). Meer PVD с соавт. определили, что у пациентов с генотипом C/C уровень VEGF в плазме снижен, что связано с неблагоприятным исходом сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с СД2 и сопутствующей ишемической болезнью сердца (ИБС) (10).

Цель исследования: изучить влияние полиморфных вариантов гена VEGF на сосудистые осложнения у пациентов с нарушениями углеводного обмена.

Материалы и методы исследования. В исследование включили 73 пациента. В зависимости от нарушения углеводного обмена они разделены на 3 группы: группа 1 – 26 пациентов с предиабетом (НТГ и НГН), группа 2 – 28 пациентов с СД2 и группу 3 составили 20 практически здоровых. Длительность СД2 составила менее 5 лет, все пациенты получали таблетированные сахароснижающие препараты. В группе пациентов с СД дополнительно выделили 2 подгруппы: 1a – без признаков ИБС, 1b – с признаками ИБС.

Характеристика групп представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика групп пациентов, включенных в исследование

Показатели	Группа 1 (n=26)	Группа 2(n=28)	Группа 3(n=20)
Пол (м/ж)	13/13	11/17	12/8
Возраст (лет)	49,2±1,9	48,5±2,1 лет	45,1±1,3
HbA1c (%)	7,1 ± 0,3*	5,17± 0,27**	4,48± 0,12
Индекс массы тела (кг/м ²)	27,1±3,07*	29,5±3,72*	25,1±0,63

Примечание - различия по отношению к группе практически здоровых лиц статистически значимы: *p<0,01, **p<0,05.

Критериями включения являлись: предиабет, длительность СД 2 не более 5 лет, стабильная стенокардия напряжения ФК 1-2. Критериями исключения являлись: наличие воспалительных заболеваний органов и тканей, острой сердечно-сосудистой патологии (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения), хронических заболеваний на стадии декомпенсации, хроническая болезнь почек (ХБП) 3-5 стадии.

Для верификации диагноза ИБС пациентам проводили эхокардиографию, велоэргометрическую пробу, суточное мониторирование ЭКГ.

Лабораторное обследование включало гликемию натощак, биохимический анализ крови с определением липидограммы, уровня креатинина, гликированного гемоглобина (HbA1c).

Наличие признаков и стадии ХБП определяли по скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле Кокрофта-Голта:

$$\frac{k \cdot [140 - \text{возраст}] \cdot \text{вес тела (кг)}}{\text{креатинин плазмы (мкмоль/л)}} \quad (1.1)$$

Примечание: k – коэффициент (мужчины – 1,23, женщины – 0,85). Классифицирование стадии ХБП определяли по результатам СКФ (6).

Проводили определение полиморфных вариантов гена VEGF методом полимеразной цепной реакции. В результате амплификации каждый краситель флуоресцирует в определенном спектре, что позволяет выявить генотип исследуемого образца.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA10.0. Количественные параметры представлены в виде среднего значения M и среднего стандартного отклонения (+S) при нормальном распределении либо в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (25% и 75%) (медиана, 25 и 75 перцентиль) при других видах распределения признака. Для оценки статистической значимости различий количественных признаков в группах был использован U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение.

Известно, что наличие впервые диагностированного предиабета ассоциировано с выявлением микроальбуминурии у 10% пациентов и протеинурии у 1,1%, по сравнению с группой лиц без нарушения углеводного обмена, что предполагает раннее развитие ХБП (8) на стадии заболевания с относительно невысоким уровнем гликемии.

Задачей нашего исследования было определить наличие взаимосвязь между изменением СКФ и определенным генотипом VEGF у пациентов, включенных в исследование.

Распределение генотипов в обследованных группах пациентов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение генотипов в обследованных группах пациентов

	Group 1 (n=26)		Group 2 (n=28)		Group 3 (n=19)	
G/C	4	3*	3	11*	6	2
C/C	2	4	-	1	1	-
G/G	13	-	10	3	10	-

Примечание - различия по отношению к группе практически здоровых лиц статистически значимы: * $p < 0,05$.

После расчета СКФ в каждой группе выделили подгруппы с ХБП 1 стадии и ХБП 2 стадии (таблица 2).

Таблица 2 – Распределение пациентов в группах по стадии ХБП и генотипу

Генотип	Группа 1		Группа 2		Группа 3	
	ХБП 1	ХБП 2	ХБП 1	ХБП 2	ХБП 1	ХБП 2
G/C	104,31 [97,32; 136,95]	84,53 [73,67; 87,93]**	108,35 [96,55; 120,15]	84,19 [81,22; 84,86]**	94,71 [96,32; 98,39]	89,51 [89,35; 89,67]
C/C	103,59 [90,49; 127,16]	71,317 [68,31; 71,82]	-*	87,38	106,96 [103,65; 110,27]	-*
G/G	97,39 [93,54; 101,60]	-*	96,45 [95,86; 100,35]	79,65 [61,28; 87,64]	99,76 [98,75; 110,31]	-*

* - случаи не зарегистрированы

**Различия между соответствующими подгруппами статистически значимы: $p < 0,05$.

По результатам проведенного исследования полиморфизм G/C гена VEGF ассоциирован с уменьшением СКФ у пациентов с предиабетом (84,53 [73,67; 87,93] мл/мин/1,73м²) и СД2 (84,19 [81,22; 84,86] мл/мин/1,73м²), по сравнению с группой практически здоровых лиц (89,51 [89,35; 89,67] мл/мин/1,73м²), ($p < 0,05$). Статистически значимые различия в других группах не выявлены.

Колебания уровня гликемии, как и гипергликемия, являются инициаторами ряда патологических механизмов, приводящих к нарушению нормальной регуляции внутриклеточных механизмов, активации генетических факторов и гибели клеток. Нарушение нормального состояния сосудистого русла обусловлено тем, что VEGF обладает проангиогенным эффектом за счет активации эндотелиальной клетки-предшественницы (2).

В исследованиях у пациентов с генотипом C/C выявляли более низкий уровень VEGF в плазме, что также сопровождалось более выраженным нарушением ангиогенеза, по сравнению с пациентами с генотипом G/G (10). Наличие G/C полиморфизма сопровождается активацией промотера, и, соответственно усиленной экспрессией VEGF (4,5).

Доказано, что даже незначительное снижение СКФ повышает риск сердечно-сосудистой летальности, что подтверждено в исследованиях

последних десятилетий (NHANESIII, Okinawa Study и др.) (1). В патофизиологии ИБС имеет значение и недостаточный ангиогенез, что сопровождается нарушением микроциркуляции и оксигенации тканей. Ишемия и гипоксия являются важными факторами, активирующими проангиогенные субстанции, включая VEGF (10), поэтому вторым этапом исследования явилась оценка распределения генотипов у пациентов с СД2 в зависимости от наличия ИБС. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение генотипа VEGF у пациентов с СД2 и ИБС

Группа	G/C (n)	C/C (n)	G/G (n)
1a(СД2)	5	1	7
1b (СД2+ИБС)	9	-	6

При анализе данных статистически значимых различий в подгруппах не выявлено, что может быть ограничено количеством образцов для исследования.

Выводы:

1. Полиморфизм G/C гена VEGF ассоциирован с развитием ХБП у пациентов с предиабетом и СД2.
2. По результатам нашего исследования не выявлено наличие связи между определенным полиморфизмом VEGF и наличием ИБС у пациентов с СД2.

Список литературы

1. Cardio-renal syndromes: report from the consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative / C. Ronco et al. // *European Heart Journal*. – 2010. - V.31. – P.703–711.
2. CD34(+) and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure / M. Valgimigli et al. // *Circulation*. – 2004. – V.110. – P.1209–12.
3. Ferrara N. The biology of VEGF and its receptors / N. Ferrara, H. Herber, J. LeCouter // *Nat Med*. – 2003. – V.9. - №6. – P.669-676.
4. Haplotype analysis of the polymorphic human vascular endothelial growth factor gene promoter / A. Stevens et al. // *Cancer Res*. – 2003. – V.63. - №8. – P.12–6.
5. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production / C.J. Watson et al. // *Cytokine*. – 2000. – V.12. – P.1232–5.
6. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease / *American Journal of Kidney Disease*. – V.49. – P.S12-S154.
7. Obesity and Dyslipidemia / R. Franssen et al. // *Endocrinol Metab Clin N Am*. – 2008. – V.37. – P.623-633.
8. Tabak G.A. Prediabetes: a high risk-state for diabetes development / G.A. Tabak // *The Lancet* – 2012 – V.379 – P.2279-2290.
9. The role of vascular endothelial growth factor +405 G/C polymorphism and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus / A. Nikzamir et al. // *Molecular Biology Reports*. – 2012. – V.39. – P.881-886.
10. The VEGF -405 CC promoter polymorphism is associated with an impaired prognosis in patients with chronic heart failure: A MERIT-HF substudy / P.V.D. Meer et al. // *Journal of Cardiac Failure*. – 2005. – V.11. - №4. – P.279-284.
11. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: prospective requirement for multiple therapies (UKPDS 49) / R.C. Tumer et al. // *JAMA*. – 1999. – V.281. – P. 2005-2012.