

Получена: 02 февраля 2022 / Принята: 16 апреля 2022 / Опубликовано online: 30 апреля 2022

DOI 10.34689/SH.2022.24.2.008

УДК 616.379-008.64

ПОЛИМОРФИЗМ *BgIII* ГЕНА *ITGA2* У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ В КАЗАХСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

**Айжан Р. Магазова^{1,2}, Ельдар Е. Аширбеков², Арман О. Абайлдаев²,
Қантемір С. Саткен², Алтынай М. Балмуханова³, Жанай А. Аканов⁴,
Айгуль В. Балмуханова¹, Камалидин О. Шарипов²**

¹ Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова,
г. Алматы, Республика Казахстан;

² Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина,
г. Алматы, Республика Казахстан;

³ Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, г. Алматы, Республика Казахстан;

⁴ Городской центр диабета ТОО «Медицинская клиника ААА», г. Алматы, Республика Казахстан.

Резюме

Введение. Сегодня в мире каждый десятый из числа взрослого населения страдает сахарным диабетом. Диабетическая ретинопатия – наиболее частое микрососудистое осложнение диабета 2 типа и ведущая причина приобретенной слепоты у людей среднего возраста во многих странах. Повышенное тромбообразование, наблюдаемое у больных диабетом, считается одной из основных причин сосудистых осложнений, в том числе ретинопатии. По данным литературы, полиморфизм α -субъединицы интегринового рецептора $\alpha 2\beta 1$, играющего важную роль на начальных этапах свертывания крови, может быть рисковым фактором развития диабетической ретинопатии.

Цель: проверить гипотезу о связи полиморфизма *BgIII* гена *ITGA2* с предрасположенностью к ретинопатии среди пациентов с сахарным диабетом 2 типа в казахстанской популяции.

Материалы и методы. Мы сравнили частоты аллелей и генотипов 94 больных диабетической ретинопатией, 94 больных диабетом без ретинопатии и 51 здорового контроля. Генотипы определяли методом ПЦР-ПДРФ.

Результаты. Во всех изученных группах распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Различия в частотах аллелей и генотипов между больными диабетом с ретинопатией и без нее были статистически недостоверными. Вместо этого, обе группы больных диабетом достоверно отличались от здоровых контролей по частотам аллелей ($P = 0.021$ и 0.002 , соответственно) и генотипов ($P = 0.042$ и 0.005 , соответственно). Аллель *BgIII*- была достоверно ассоциирована с диабетом, $OR = 1.81$ [95%CI: 1.09–2.99] для группы больных диабетической ретинопатией, и $OR = 2.24$ [95%CI: 1.34–3.75] для группы больных диабетом без ретинопатии. Ассоциация также наблюдалась при сравнениях в подмножестве казахов.

Выводы. В настоящей работе мы показали, что полиморфизм *BgIII* гена *ITGA2* может быть ассоциирован не только с диабетической ретинопатией, но и с сахарным диабетом 2 типа. Согласно нашим данным, рисковой для диабета является дикая аллель *BgIII*-, а не минорная *BgIII*+, которая считается таковой для диабетической ретинопатии.

Ключевые слова: сахарный диабет, полиморфизм, заболеваемость, население, ретинопатия.

Abstract

BgIII POLYMORPHISM IN ITGA2 GENE IN PATIENTS WITH DIABETIC RETINOPATHY IN THE KAZAKHSTAN POPULATION

**Aizhan Magazova^{1,2}, Yeldar Ashirbekov², Arman Abaildayev²,
Kantemir Satken², Altinay Balmukhanova³, Zhanay Akanov⁴,
Aigul Balmukhanova¹, Kamalidin Sharipov²**

¹ S. Asfendiyarov Kazakh national medical University, Almaty c., Republic of Kazakhstan;

² M. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Almaty c., Republic of Kazakhstan;

³ CityAl - Farabi Kazakh national university, Almaty c., Republic of Kazakhstan;

⁴ City Center for Diabetes "Medical Clinic AAA", Almaty c., Republic of Kazakhstan.

Introduction. Currently, one in ten adult around the world suffers from diabetes. Diabetic retinopathy is the most common microvascular complications of type 2 diabetes and a leading cause of blindness in middle-aged people in many countries. Accelerated thrombus formation observed in diabetic patients is considered one of the main causes of vascular

complications, including retinopathy. According to the literature, polymorphism in the α -subunit of the integrin receptor $\alpha 2\beta 1$, which plays an important role in the initial stages of blood coagulation, may be a risk factor for the development of diabetic retinopathy.

Purpose: to examine the hypothesis that the *BgIII* polymorphism in *ITGA2* gene associated with a predisposition to retinopathy among patients with type 2 diabetes mellitus in the Kazakhstan population.

Materials and methodology. We compared allele and genotype frequencies between 94 diabetic retinopathy patients, 94 diabetic patients without retinopathy, and 51 healthy controls. Genotypes were determined by PCR-RFLP method.

Results. The genotype distribution in each studied group was compatible with Hardy-Weinberg expectations. The genotype and allele frequencies were not significantly different between diabetic patients with and without retinopathy. Instead, both groups of diabetic patients significantly differed in allele ($P = 0.021$ and 0.002 , respectively) and genotype frequencies ($P = 0.042$ and 0.005 , respectively) from healthy controls. The *BgIII*- allele was significantly associated with diabetes, OR = 1.81 [95% CI: 1.09–2.99] for the diabetic retinopathy group, and OR = 2.24 [95% CI: 1.34–3.75] for the non-retinopathy diabetic group. The association was also observed in comparisons within the subset of Kazakhs.

Conclusions. In this paper, we have shown that *BgIII* polymorphism in *ITGA2* gene may be associated not only with diabetic retinopathy, but also with type 2 diabetes mellitus. According to our data, the risk allele for diabetes is the wild *BgIII*- allele, and not the minor *BgIII*+, which is considered as such for diabetic retinopathy.

Keywords: diabetes mellitus, polymorphism, morbidity, population, retinopathy

Түйіндеме

ҚАЗАҚСТАНДЫҚ ПОПУЛЯЦИЯДАҒЫ ДИАБЕТТІК РЕТИНОПАТИЯСЫ БАР НАУҚАСТАРЫНДА *ITGA2* ГЕНІНІҢ *BgIII* ПОЛИМОРФИЗМІ

Айжан Р. Магазова^{1,2}, Ельдар Е. Аширбеков², Арман О. Абайлдаев²,
Қантемір С. Саткен², Алтынай М. Балмуханова³, Жанай А. Аканов⁴,
Айгуль В. Балмуханова¹, Камалидин О. Шарипов²

¹ С.Д. Асфендияров атындағы ұлттық медициналық университет,
Алматы қ., Қазақстан Республикасы;

² М.Ә. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты,
Алматы қ., Қазақстан Республикасы;

³ Әл - Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Алматы қ., Қазақстан Республикасы;

⁴ Қалалық диабет орталығы «Медициналық клиника ААА» ЖШС,
Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Кіріспе. Бүгінде әлемде ересек тұрғындардың әрбір оныншы бөлігі қант диабетімен ауырады. Диабеттік ретинопатия 2 типті қант диабетінің ең жиі кездесетін микроваскулярлық асқыну және көптеген елдердегі орта жастағы адамдарда жүре пайда болған соқырлықтың жетекші себебі болып табылады. Қант диабетімен ауыратын науқастарда тромб түзілуінің жоғарылауы микроваскулярлы тамырлы асқынулардың, соның ішінде ретинопатияның негізгі себептерінің бірі болып саналады. Әдебиеттерге сәйкес, қанның коагуляциясының бастапқы кезеңдерінде маңызды рөл атқаратын $\alpha 2\beta 1$ интегрин рецепторының α -суббірлігінің полиморфизмі диабеттік ретинопатия дамуының қауіп факторы болуы мүмкін.

Мақсаты. Қазақстандық популяциядағы 2 типті қант диабетімен ауыратын науқастардың ретинопатияға бейімділігімен *ITGA2* генінің *BgIII* полиморфизмінің байланысы туралы гипотезаны зерттеу.

Зерттеу материалдары мен әдістері: Біз диабеттік ретинопатиясы бар 94 науқастың, ретинопатиясы жоқ қант диабетімен ауыратын 94 науқастың және бақылау тобындағы 51 сау адамның аллель және генотип жиілігін салыстырдық. Генотиптер ПТР-РФЫП әдісімен анықталды.

Нәтижелері. Барлық зерттелген топтарда генотиптердің таралуы Харди-Вайнберг тепе-теңдігіне сәйкес келді. Ретинопатиясы бар және жоқ қант диабетімен ауыратын науқастар арасындағы аллельдік және генотиптік жиіліктердегі айырмашылықтар статистикалық маңызды емес болған. Оның орнына қант диабетімен ауыратын науқастардың екі тобы аллель жиілігі (теісінше $P = 0.021$ және 0.002) және генотиптер жиілігі (теісінше $P = 0.042$ және 0.005) бойынша сау бақылаулардан айтарлықтай ерекшеленді. *BgIII*- аллелі қант диабетімен айтарлықтай байланысты болды, диабеттік ретинопатия тобы үшін OR = 1.81 [95% CI: 1.09–2.99] және ретинопатиясы жоқ диабеттік тобы үшін OR = 2.24 [95% CI: 1.34–3.75]. Байланыс қазақтар арасында салыстыру кезінде де байқалды.

Қорытынды. Бұл жұмыста біз *ITGA2* генінің *BgIII* полиморфизмі диабеттік ретинопатиямен ғана емес, сонымен қатар 2 типті қант диабетімен де байланысты болуы мүмкін екенін көрсеттік. Біздің деректерге сәйкес, 2 типті қант диабетінің қауіп – диабеттік ретинопатия үшін қарастырылатын *BgIII*+ минорлық аллель емес, ал бастапқы аллель *BgIII*- болып табылады.

Түйінді сөздер: қант диабеті, полиморфизм, аурушаңдық, халық, ретинопатия.

Библиографическая ссылка:

Магазова А.Р., Аширбеков Е.Е., Абайлдаев А.О., Саткен Қ.С., Балмуханова А.М., Аканов Ж.А., Балмуханова А.В., Шарипов К.О. Полиморфизм BgIII ГЕНА ITGA2 у пациентов с диабетической ретинопатией в казахстанской популяции // Наука и Здравоохранение. 2022. 2(Т.24). С. 63-70. doi 10.34689/SH.2022.24.2.008

Magazova A., Ashirbekov Ye., Abaildayev A., Satken K., Balmukhanova A., Akanov Zh., Balmukhanova A., Sharipov K. BgIII polymorphism in ITGA2 gene in patients with diabetic retinopathy in the Kazakhstan population // *Nauka i Zdravookhranenie* [Science & Healthcare]. 2022, (Vol.24) 2, pp. 63-70. doi 10.34689/SH.2022.24.2.008

Магазова А.Р., Аширбеков Е.Е., Абайлдаев А.О., Саткен Қ.С., Балмуханова А.М., Аканов Ж.А., Балмуханова А.В., Шарипов К.О. Қазақстандық популяциядағы диабеттік ретинопатиясы бар науқастарында ITGA2 генінің BgIII полиморфизмі // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2022. 2 (Т.24). Б. 63-70. doi 10.34689/SH.2022.24.2.008

Введение

ВОЗ определила ситуацию сахарного диабета (СД) как эпидемию неинфекционного характера из-за широкой распространенности, ранней инвалидизации пациентов в трудоспособном возрасте и высокой летальности заболевания. Согласно сведениям Международной федерации диабета сегодня в мире каждый десятый из числа взрослого населения (в возрасте от 20 до 79 лет) страдает СД, что составляет 537 млн. человек, а к 2045 году, по оценкам, это число увеличится до 783 млн. [11]. Пациенты с СД страдают от многих осложнений заболевания, включая макрососудистые (инсульт, ишемическая болезнь сердца и заболевание периферических артерий) и микрососудистые (ретинопатия, невропатия и нефропатия) патологии [29, 7]. Диабетическая ретинопатия (ДР) является наиболее частым микрососудистым осложнением диабета (каждый третий пациент СД 2 типа имеет ДР) и ведущей причиной приобретенной слепоты у людей среднего возраста во многих странах, к тому же имеет тенденцию к увеличению заболеваемости во всем мире [7, 25].

ДР характеризуется протекающей сосудистой сетчаткой, ишемией сетчатки, ангиогенезом и воспалением сетчатки. Эти патологии клинически проявляются в виде ватных пятен, экссудатов, мелких извилистых вен, аневризм и областей кровоизлияния, которые приводят к снижению остроты зрения, потере цветовой чувствительности и проблемному ночному зрению [9]. Воспаление сетчатки способствует увеличению проницаемости сосудов и потере гематоэнцефалического барьера, что в результате приводит к диабетическому макулярному отеку (ДМО) – первому осложнению ДР, вследствие которого снижается центральное зрение [16, 28]. Второе осложнение развивается вследствие ишемии сетчатки, вызывающей рост новых мелких патологических кровеносных сосудов в центральной части заднего сегмента, которые прикрепляются к поверхности стекловидного тела и подвержены к разрывам, что может привести к отслоению сетчатки – это состояние известно как пролиферативная ДР (ПДР) [28, 10].

Клинические данные показывают, что некоторые диабетики, несмотря на длительную продолжительность их диабета (25 лет и более), не демонстрируют никаких признаков ДР или демонстрируют минимальную непролиферативную ДР (НПДР) [5]. Эти данные, наряду с наблюдаемой семейной корреляцией ДР, свидетельствует о существовании генетической предрасположенности к ДР [24, 6]. Однако, проведенные на данный момент

полногеномные исследования ассоциаций (GWAS) с ДР, дали результаты, которые не воспроизводятся в повторных исследованиях или на других популяциях. Среди причин неоднозначности полученных данных можно назвать недостаточный размер выборок, различные параметры в классификации пациентов, этнические особенности. Тем не менее, из полученных результатов ясно, что генетическая архитектура этого заболевания очень сложна и связана с многочисленными внешними факторами риска и взаимодействиями между генами и окружающей средой [6, 3].

Из-за гипергликемии при СД происходит дисрегуляция нескольких сигнальных путей, затрагивающих взаимодействия рецепторов к клеткам системы свертывания крови [26,15]. Тромбоциты больных СД гиперреактивны к активирующим агентам, таким как аденозиндифосфат, коллаген и тромбин. Повышенное тромбообразование, наблюдаемое у больных СД, является одним из основных факторов патогенеза и прогрессирования сосудистых осложнений, в том числе микрососудистых [26-22]. Повреждение сосуда приводит к оголению субэндотелиального слоя, богатого коллагеном, который взаимодействует с рецепторами тромбоцитов, вызывает их непосредственную адгезию к поврежденному субэндотелию и активацию [8]. Учитывая важную роль интегринов, трансмембранных гетеродимерных клеточных рецепторов для лигандов внеклеточного матрикса, в активации тромбообразования, можно предположить, что полиморфизмы в генах интегринов могут быть ассоциированы с ДР. Действительно, в нескольких независимых исследованиях на разных популяциях было показано что полиморфизмы в гене ITGA2 α-субъединицы интегрин α2β1, рецептора коллагена и ламинина, ассоциированы с риском ДР [20-2].

В данном исследовании мы протестировали ассоциацию полиморфизма BgIII (rs2910964) в гене ITGA2 с риском ДР в казахстанской популяции. Для этого мы провели исследование типа случай-контроль, сравнив частоты аллелей и генотипов в трех группах: больных ДР, больных СД без ДР и здоровых контролей.

Материалы и методы**Объект исследования**

Забор венозной крови 94 больных СД II типа с клинически подтвержденной ДР и 94 больных СД 2 типа без ДР осуществлялся в трех диабетических учреждениях г. Алматы: Алматинской многопрофильной клинической больнице, Городском центре диабета на базе ТОО «Медицинская клиника

ААА» и Казахском НИИ глазных болезней МЗ РК в 2020–2021 годах. Отбор пациентов осуществляли сплошным методом, по мере поступления в клинику. Всем пациентам после сбора анамнеза и общего осмотра проводили полное офтальмологическое обследование по стандартным методикам, включающее в себя визометрию, рефрактометрию, кератометрию, тонометрию, периметрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, оптическую когерентную томографию (ОКТ). Исследование сетчатки проводили обратной офтальмоскопией под мидриазом асферической линзой. Результаты обследования были классифицированы по четырем стадиям в соответствии с классификацией Kohner E. и Porta M.: отсутствие ретинопатии, непролиферативная ДР (НПДР), препролиферативная ДР (ППДР), пролиферативная ДР (ПДР). Забор крови 51 здорового донора казахской национальности производился в Карасайской центральной районной больнице в г. Каскелен Алматинской области в 2019 году. Характеристика изучаемых групп представлена в таблице 1. Количественные данные с нормальным характером распределения выражены средними значениями и стандартными отклонениями. Исследование не противоречит принципам Хельсинкской декларации и прошло проверку на соответствие этическим требованиям на заседании локальной этической комиссии Института молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина. Все доноры подписали информационное согласие на использование биоматериала в настоящей работе.

Выделение ДНК и генотипирование

Выделение ДНК из крови проводили с использованием коммерческого набора DNeasy Blood & Tissue Kit производства QIAGEN (Германия) по протоколу изготовителя.

Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). Последовательности праймеров для амплификации необходимого фрагмента были взяты из ранней работы [17]. Реакционная смесь ПЦР в объеме 10 мкл содержала 10 нг ДНК, 67 мМ Трис-НСI (рН 8,8), 16,6 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 6 мМ MgCl_2 , 0,01% твин-20, 0,15 мг/мл альбумина, по 4 пМ каждого праймера, смесь dNTP по 200 мкМ каждого и 1 ед. Таq-ДНК-полимеразы. Режим ПЦР: денатурация 95°C в течение 7 мин; 35 циклов амплификации 94°C – 20 сек., 65°C – 30 сек., 72°C – 40 сек.; завершающий этап – 72°C в течение 7 мин. Продукты амплификации обрабатывали эндонуклеазой *Bgl*II в условиях, рекомендованных производителем. Оценку длин фрагментов проводили методом электрофореза в 8% полиакриламидном геле.

Статистический анализ

Для сравнения средних значений характеристик изученных групп использовали t-критерий Стьюдента (для количественных данных) и критерий согласия (χ^2) Пирсона (для номинальных данных). Соответствие распределения генотипов закону Харди-Вайнберга и достоверность различий в частотах генотипов и аллелей рассчитывали с помощью критерия согласия (χ^2) Пирсона. В качестве индикатора степени

ассоциации использовали отношение шансов (OR – odds ratio) с 95% доверительным интервалом. Различия при значениях $P > 0.05$ считались статистически достоверными. Логистическую регрессию применяли для корректировки фоновых переменных при анализе генотипа как независимого фактора риска развития заболевания. Для большинства расчетов использовалась программа Jamovi [27].

Результаты

Мы протестировали гипотезу о связи полиморфизма *Bgl*II гена α -субъединицы интегринового рецептора $\alpha 2\beta 1$ с предрасположенностью к ДР среди пациентов с СД 2 типа в казахстанской популяции. Для этого мы сравнили частоты аллелей и генотипов в трех группах: больных СД с ДР, больных СД без ДР и здоровых контролей.

При сравнении демографических и клинических характеристик между группами больных ДР и больных СД без ДР, почти по всем показателям статистически значимых различий не обнаружено (данные не показаны), за исключением продолжительности течения СД: на момент исследования в группе больных ДР в среднем болели на 4 года дольше, чем в группе больных СД без осложнений на глазном дне ($P = 1.47\text{e-}4$). При сравнении групп больных СД с ДР и без ДР с группой здоровых контролей выявлены различия в возрасте ($4.57\text{e-}21$ и $4.67\text{e-}21$, соответственно). (Табл. 1)

Методом ПЦР-ПДРФ мы определили генотипы представителей трех изученных групп. Распределение генотипов и частоты аллелей полиморфизма *Bgl*II гена *ITGA2* приведены в таблице 2. Во всех изученных группах распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Различия в распределении генотипов между группами больных СД с ДР и без ДР оказались статистически недостоверными ($P = 0.243$), несмотря на заметное превышение частоты гомозиготных генотипов *Bgl*II+/*Bgl*II+ в группе больных ДР (11% против 4% у больных СД без ДР, OR по отношению к гомозиготам *Bgl*II-/*Bgl*II- = 2.60 [95%CI: 0.77–8.83], $P = 0.096$). Это превышение отразилось на частотах аллелей, хотя различия были менее заметными, различия в частотах аллелей между двумя группами больных СД были недостоверными ($P = 0.350$). Достоверных различий в распределении генотипов между группами больных с разными степенями прогрессирования ДР, с наличием ДМО и без него, также не обнаружено.

Также мы сравнили группы больных СД со здоровыми контролями. Обе группы больных СД (с и без ДР) достоверно отличались от группы здоровых контролей как в распределении генотипов ($P = 0.042$ и 0.005 , соответственно), так и по частотам аллелей ($P = 0.021$ и 0.002 , соответственно). Исследуемый полиморфизм был ассоциирован с повышенным риском СД2. Учитывая показатели OR, рисковой аллелью нужно признать мажорную аллель *Bgl*II- (OR для сравнения больными ДР с контролями = 1.81 [95%CI: 1.09–2.99] и OR для сравнения больных СД без ДР с контролями = 2.24 [95%CI: 1.34–3.75]). Наиболее подходящей моделью наследования является рецессивная модель.

Таблица 1.

Демографические и клинические характеристики изученных групп.

(Table 1. Demographic and clinical characteristics of the study groups).

Характеристика	Пациенты СД с ДР	Пациенты СД без ДР	Здоровые контроли
Количество	94	94	51
из них:			
женщины	60	54	22
мужчины	34	40	29
казахи	59	64	51
уйгуры	15	13	-
русские	14	10	-
другие этносы (корейцы, курды, азербайджанцы, узбеки, каракалпаки, китайцы, турки удмурты)	6	7	-
курящие	8	17	-
употребляющие алкоголь (по праздникам)	13	13	-
с отягощенным семейным анамнезом по диабету	44	43	-
стадия ДР:			
НПДР	36	-	-
ППДР	38	-	-
ПДР	20	-	-
ДМО	18	-	-
Возраст	60,36 ± 10,59	59,53 ± 9,75	34,57 ± 17,10
Возраст начала болезни	47,84 ± 12,11	50,85 ± 10,75	-
Продолжительность болезни	12,51 ± 6,52	8,60 ± 7,29	-
Индекс массы тела, женщины	28,27 ± 4,71	28,84 ± 6,03	-
Индекс массы тела, мужчины	28,02 ± 3,49	26,96 ± 4,78	-
Уровень глюкозы в крови (натощак), ммоль/л	9,82 ± 3,70	9,77 ± 3,20	-

Таблица 2.

Распределение генотипов и частоты аллелей в полиморфизме BgIII в гене ITGA2

(Table 2 – Genotype distribution and allele frequency of BgIII polymorphism in ITGA2 gene).

		ДР (n = 94) n (%)	Диабет (n = 94) n (%)	Здоровые (n = 51) n (%)	ДР vs Диабет Р знач.	ОР (95%ДИ)	ДР vs Здоровые Р знач.	ОР (95%CI)	Диабет vs Здоровые Р знач.	ОР (95%ДИ)
Аддитивная модель	(--)	50 (0.53)	52 (0.55)	16 (0.31)	0.243	1	0.042*	1	0.005**	1
	(-+)	34 (0.36)	38 (0.40)	27 (0.53)		0.93 (0.51–1.70)		0.40 (0.19–0.86)*		0.43 (0.21–0.91)*
	(++)	10 (0.11)	4 (0.04)	8 (0.16)		2.60 (0.77–8.83)		0.40 (0.14–1.19)		0.15 (0.04–0.58)**
Рецессивная модель (для мажорной аллели)	(--)	50 (0.53)	52 (0.55)	16 (0.31)	0.770	0.92 (0.52–1.63)	0.012*	2.49 (1.21–5.09)*	0.006**	2.71 (1.32–5.55)**
	(-+)(++)	44 (0.47)	42 (0.45)	35 (0.69)		1.09 (0.61–1.93)		0.40 (0.20–0.82)*		0.37 (0.18–0.76)**
Аллели	(-)	134 (0.71)	142 (0.76)	59 (0.58)	0.350	0.80 (0.51–1.27)	0.021*	1.81 (1.09–2.99)*	0.002**	2.25 (1.35–3.77)**
	(+)	54 (0.29)	46 (0.24)	43 (0.42)		1.24 (0.79–1.97)		0.55 (0.33–0.92)*		0.44 (0.27–0.74)**
РХВ, Р знач.		0.722	0.789	0.832						

*P<0.05, **P<0.01

Чтобы исключить фактор этнической неоднородности в изученных группах мы провели аналогичные сравнения в подмножестве казахов. Для других этнических групп сравнения не производились из-за малой представленности этих групп. При сравнениях групп казахов мы получили похожую картину, что и в общей выборке (таблица 3). Среди казахов различий в распределении генотипов и частотам аллелей между группами больных ДР и больных СД без ДР также не выявлено (P = 0.229 для генотипов, P = 0.850 для аллелей). При сравнении обеих групп больных СД (с ДР и без ДР) с группой

здоровых контролей были обнаружены статистически достоверные различия в распределении генотипов (P = 0.022 и 0.043, соответственно) и частотах аллелей (P = 0.013 и 0.018, соответственно), хотя в трех случаях из четырех различия были менее значимы по сравнению с общей выборкой. Обнаруженные ассоциации генотипа аллели BgIII- с СД подтвердились на выборке казахов: показатели ОР были сходными с таковыми, полученными для общей смешанной выборки.

Таким образом, нам удалось выявить ассоциацию полиморфизма BgIII гена ITGA2 с СД 2 типа, но не с ДР, в казахской (казахстанской) популяции.

Таблица 3.

Распределение генотипов и частоты аллелей в полиморфизме *Bg/II* гена *ITGA2* в группе казахов.(Table 3 – Genotype distribution and allele frequency of *Bg/II* polymorphism in *ITGA2* gene in Kazakhs group).

		ДР	Диабет	Здоровые	ДР vs Диабет		ДР vs Здоровые		Диабет vs Здоровые				
		(n = 59) n (%)	(n = 64) n (%)	(n = 51) n (%)	Р знач.	OR (95%ДИ)	Р знач.	OR (95%ДИ)	Р знач.	OR (95%ДИ)			
Аддитивная модель	(--)	34 (0.58)	32 (0.50)	16 (0.31)	0.229	1	0.022*	1	0.043*	1			
	(-+)	19 (0.32)	29 (0.45)	27 (0.53)							0.62 (0.29–1.31)	0.33 (0.14–0.76)*	0.54 (0.24–1.19)
	(++)	6 (0.10)	3 (0.05)	8 (0.16)							1.88 (0.43–8.17)	0.35 (0.11–1.19)	0.19 (0.04–0.80)*
Рецессивная модель (для мажорной аллели)	(--)	34 (0.58)	32 (0.50)	16 (0.31)	0.397	1.36 (0.67–2.77)	0.006**	2.98 (1.36–6.52)**	0.044*	2.19 (1.02–4.72)			
	(-+)(++)	25 (0.42)	32 (0.50)	35 (0.69)							0.74 (0.36–1.50)	0.34 (0.15–0.74)**	0.46 (0.21–0.99)
Аллели	(-)	87 (0.74)	93 (0.73)	59 (0.58)	0.850	1.06 (0.60–1.86)	0.013*	2.05 (1.16–3.61)*	0.018*	1.94 (1.11–3.37)*			
	(+)	31 (0.26)	35 (0.27)	43 (0.42)							0.95 (0.54–1.67)	0.49 (0.28–0.86)*	0.52 (0.30–0.90)*
РХВ, Р знач.		0.516	0.582	0.832									

*P<0.05, **P<0.01

Обсуждение

Согласно *J.T.Kunicki с соавт.* [18] представленность интегрина рецепторов $\alpha 2\beta 1$ на поверхности тромбоцитов может отличаться в 10 раз у различных людей, и ассоциирована с молчащей транзицией T807C в гене *ITGA2* α -субъединицы интегрина: аллель T связана с повышенной, а аллель C – с пониженной плотностью рецептора. Позже, в другой работе эта же группа ученых показала, что данная связь, вероятно, объясняется неравновесием по сцеплению с другой заменой C-52T в 5'-регуляторной зоне гена, приводящей к уменьшению его экспрессии посредством влияния на регуляторные белки Sp1 и Sp3 [13]. Кроме этих двух замен известно не менее 6 полиморфизмов непосредственно в гене *ITGA2* и его в регуляторных областях, также находящихся в неравновесии по сцеплению друг с другом. В их числе и расположенная в 7 интроне транзиция G/A (rs2910964), больше известная в литературе как полиморфизм *Bg/II*. Согласно литературным данным мажорная аллель *Bg/II*- связана с аллелями 807C и -52T и ассоциирована с пониженной плотностью рецепторов, минорная аллель *Bg/II*+ связана с аллелями 807T и -52C и ассоциирована с повышенной плотностью рецепторов [20, 8].

В своем исследовании мы не выявили связи между полиморфизмом *Bg/II* и ДР в казахстанской популяции и отдельно в казахской этнической группе. Эти данные не согласуются с некоторыми зарубежными исследованиями. *Y. Matsubara с соавт.* выявили повышенный риск развития ДР и нефропатии у пациентов СД2 с аллелью *Bg/II*+ среди японцев, при том, что оба заболевания в значительной степени перекрывались; при рассмотрении подмножества больных со стажем СД ≥ 10 лет ассоциации усилились [20]. *M.G Petrovich с соавт.* на выборке европейцев показали, что генотип *Bg/II*+/+ может рассматриваться как независимый рискованный фактор для развития ДР [23]. К такому же выводу пришли и *F. Midani с соавт.*, проведя исследование на выборке туницев [21] и *R. Azmy с соавт.* на смешанной выборке жителей Египта [2].

С другой стороны, в литературе имеются сведения, подтверждающие наши данные. *H. Li с соавт.* не обнаружили значимых различий в распределении генотипов полиморфизма *Bg/II* между группой больных

ДР и группой больных СД2 с продолжительностью заболевания более 10 лет в китайской популяции [19]. *А.Г. Исхакова с соавт.* не обнаружили ассоциации полиморфизма *Bg/II* с ДР среди пациентов СД2 в популяции Поволжья, основу (84%) которой составляла русская этническая группа [12]. *А.С. Cepeda-Nieto с соавт.* не обнаружили ассоциации полиморфизма *Bg/II* с ДР на выборке пациентов со стажем СД2 ≥ 10 лет в мексиканской популяции; однако, представленные результаты сомнительны: судя по полученному распределению генотипов, авторы не различили гетерозиготный и один из гомозиготных генотипов [4].

В нашей работе мы показали, что полиморфизм *Bg/II* может быть ассоциирован не только с ДР, но и с СД 2 типа. Кроме того, согласно нашим данным, рисковой аллелью для СД2 является дикая аллель *Bg/II*-, а не минорная аллель *Bg/II*+, которая считается рисковой при состояниях с патологически гиперактивным тромбообразованием, как в случае с ДР, а также другими сосудистыми заболеваниями, например инсульте [14]. Частоты аллелей изученного полиморфизма в казахской этнической группе (0.42 для минорной аллели), полученные в этом исследовании, ближе к таковым для европейских популяций (0.41 по данным NCBI), нежели восточноазиатским популяциям (0.28, данные NCBI). В казахской популяции у больных СД2 наблюдалось значительное смещение аллельного соотношения до отметки 0.26–0.27 аллели *Bg/II*+

Ни в одной из вышеприведенных работ авторы не сравнивали распределение генотипов в полиморфизме *Bg/II* гена *ITGA2* между группами больных СД2 и здоровых индивидов. В единственной ранней работе *Afzal с соавт.*, исследуя пакистанскую популяцию, наряду с группами больных СД2 с и без ДР включили в анализ также здоровые контроли: по результатам были выявлены достоверные различия в распределении генотипов между контролями и больными ДР; однако, в отличие от нашего исследования, частота минорной аллели *Bg/II*+ у больных СД2 была повышена, данная аллель выступила в качестве рисковой для ДР [1].

Принимая во внимание то, что в казахской популяции у больных СД2 наблюдались пониженные частоты аллели *Bg/II*+, вероятно, ограниченный размер выборки не позволил обнаружить статистически достаточного количества гомозигот *Bg/II*+/*Bg/II*+

(которые в большинстве работ признаются рисковыми) для выявления ассоциации с ДР.

Заключение

Таким образом, несомненно, что полиморфизм BgIII гена ITGA2 играет важную роль в патогенезе ДР, что подтверждается результатами нескольких независимых исследований. Однако, несогласованность наших и некоторых других литературных данных с этими работами подтверждает тезис о сложности генетической архитектуры данного заболевания. В настоящей работе мы показали, что полиморфизм BgIII может быть ассоциирован не только с ДР, но и с СД 2 типа. Согласно нашим данным, рисковой аллелью для СД2 является дикая аллель BgIII-, а не минорная BgIII+, которая считается рисковой для ДР.

Финансирование: исследование профинансировано Министерством образования и науки Республики Казахстан в рамках научно-технической программы OR11465447, а также грантового проекта AP08857430.

Вклад авторов:

дизайн исследования – Шарипов К.О. Балмуханова А.В.;
сбор биоматериала Магазова А.Р., Балмуханова А.М.,
Абайлдаев А., Саткен К., Аканов Ж.А.;
эксперименты – Магазова А.Р., Балмуханова А.М.,
Абайлдаев А., Саткен К.;
статанализ – Аширбеков Е., Магазова А.Р.;
текст статьи – Магазова А.Р.;
таблицы – Магазова А.Р., Саткен К.;
правки и замечания – Аширбеков Е. Аканов Ж.А.,
Балмуханова А.В., Шарипов К.О.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения о публикации: результаты исследования не были опубликованы ранее в других журналах и находятся на рассмотрении в других издательствах.

Литература:

1. Afzal N., Imran M., Zafar A., Musawar A., Tahir R., Abbas S., Abbas A., Zaman S., Jahan S. Association of Alpha-2 Beta-1 Integrin Polymorphism with Retinopathy in Diabetic Patients // J Diabetes Metab. 2012. 3:9(09): 1000223.
2. Azmy R., Dawood A., Kilany A., El-Ghobashy Y., Ellakwa A.F., El-Daly M. Association analysis of genetic variations of eNOS and $\alpha 2\beta 1$ integrin genes with type 2 diabetic retinopathy // Appl Clin Genet. 2012; 5: 55-65.
3. Burdon K.P., McComish B.J., Charlesworth J.C. Progress and challenges in genome-wide studies to understand the genetics of diabetic retinopathy // Ann Eye Sci. 2018. 3: 46.
4. Cepeda-Nieto A.C., Esquivel-Contreras M.T., Duran-Iñiguez F., Salinas-Santander M.A. et al. High prevalence of diabetic retinopathy and lack of association with integrin $\alpha 2$ gene polymorphisms in patients with type 2 diabetes from Northeastern Mexico // Exp Ther Med. 2015;10(2):435-444.
5. Clustering of long-term complications in families with diabetes in the diabetes control and complications trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group Diabetes 1997; 46(11): 1829-1839.
6. Cole J.B., Florez J.C. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications // Nat Rev Nephrol. 2020. Jul.16(7):377-390.

7. Duh E.J., Sun J.K., Stitt A.W. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies // JCI Insight. 2017. 2(14):e93751.

8. Furihata K., Nugent D.J., Kunicki T.J. Influence of platelet collagen receptor polymorphisms on risk for arterial thrombosis // Arch Pathol Lab Med. 2002; 126(3): 305-9.

9. Gardner T.W., Sundstrom J.M. A proposal for early and personalized treatment of diabetic retinopathy based on clinical pathophysiology and molecular phenotyping // Vision Res. 2017. 139: 153-160.

10. Hendrick A.M., Gibson M.V., Kulshreshtha A. Diabetic Retinopathy // Prim Care. 2015. Sep.42(3):451-64.

11. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 10th ed. Brussels: IDF; 2021. <http://www.diabetesatlas.org> (Дата обращения: 25.10.2021)

12. Iskhakova A.G., Toropovsky A.N., Zolotarev A.V., Pavlova O.N., Komarova M.V., Viktorov D.A. Analysis of the mutation frequency of the genes associated with diabetic retinopathy in the Volga region // Modern problems of science and education. 2019. 6: 109-109.

13. Jacquelin B., Tarantino M.D., Kritzik M., Rozenshteyn D., Koziol J.A., Nurden A.T., Kunicki T.J. Allele-dependent transcriptional regulation of the human integrin $\alpha 2$ gene // Blood. 2001. 97 (6): 1721–1726.

14. Jalel A., Midani F., Fredj S.H., Messaoud T., Hentati F., Soualmia H. Association of BgIII Polymorphism in ITGA2 and (894G/T and -786T/C) Polymorphisms in eNOS Gene With Stroke Susceptibility in Tunisian Patients $\alpha 2$ Gene Polymorphism in $\alpha 2\beta 1$ Integrin and eNOS Gene Variants and Stroke // Biol Res Nurs. 2021. 23(3):408-417.

15. Kaur R, Kaur M, Singh J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies // Cardiovasc Diabetol. 2018. 17(1):121.

16. Klaassen I., Van Noorden C.J., Schlingemann R.O. Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions // Prog Retin Eye Res. 2013; 34: 19-48.

17. Kritzik M., Savage B., Nugent D.J., Santoso S., Ruggeri Z.M., Kunicki T.J. Nucleotide polymorphisms in the alpha2 gene define multiple alleles that are associated with differences in platelet alpha2 beta1 density // Blood. 1998; 92(7): 2382-8.

18. Kunicki T.J., Kritzik M., Annis D.S., Nugent D.J. Hereditary variation in platelet integrin alpha 2 beta 1 density is associated with two silent polymorphisms in the alpha 2 gene coding sequence // Blood. 1997. 89(6):1939-43.

19. Li H., Louey J.W., Choy K.W., Liu D.T. et al. EDN1 Lys198Asn is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes // Mol Vis. 2008. 14: 1698-704.

20. Matsubara Y., Murata M., Maruyama T., Handa M., Yamagata N., Watanabe G., Saruta T., Ikeda Y. Association between diabetic retinopathy and genetic variations in alpha2beta1 integrin, a platelet receptor for collagen // Blood. 2000;95(5):1560-4.

21. Midani F., Ben Amor Z., El Afrif M.A., Kallel A., Feki M., Soualmia H. The Role of Genetic Variants (rs869109213 and rs2070744) Of the eNOS Gene and BgIII in the $\alpha 2$ Subunit of the $\alpha 2\beta 1$ Integrin Gene in Diabetic

Retinopathy in a Tunisian Population // *Semin Ophthalmol.* 2019;34(5):365-374.

22. *Murugesan N., Üstunkaya T., Feener E.P.* Thrombosis and Hemorrhage in Diabetic Retinopathy: A Perspective from an Inflammatory Standpoint // *Semin Thromb Hemost.* 2015;41(6):659-64.

23. *Petrovič M.G., Hawlina M., Peterlin B., Petrovič D.* BgIII gene polymorphism of the alpha2beta1 integrin gene is a risk factor for diabetic retinopathy in Caucasians with type 2 diabetes // *J Hum Genet.* 2003;48(9):457-460.

24. *Rema M., Saravanan G., Deepa R., et al.* Familial clustering of diabetic retinopathy in South Indian Type 2 diabetic patients // *Diabet Med* 2002. 19: 910-6.

25. *Simó-Servat O., Hernández C., Simó R.* Usefulness of the vitreous fluid analysis in the translational

research of diabetic retinopathy // *Mediators Inflamm.* 2012. 2012:872978.

26. *Stratmann B., Tschöepe D.* Pathobiology and cell interactions of platelets in diabetes // *Diab Vasc Dis Res.* 2005. 2(1):16-23.

27. The jamovi project. Jamovi (Version 1.2) [Computer Software]. 2020. Retrieved from <https://www.jamovi.org>. (Дата обращения: 12.10.2020)

28. *Wong T.Y., Cheung C.M., Larsen M., Sharma S., Simó R.* Diabetic retinopathy // *Nat Rev Dis Primers.* 2016 Mar 17, 2:16012.

29. *Zheng Y., Ley S.H., Hu F.B.* Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications // *Nat Rev Endocrinol.* 2018.14(2):88-98.

Контактная информация:

Мағазова Айжан Русланқызы – докторант PhD по специальности “Медицина” НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова», г. Алматы, Республика Казахстан;

Почтовый адрес: Қазақстан Республикасы, 050000, Алматы қ., Толеби 94.

E-mail: magazova91@mail.ru

Телефон: 87023575677