



**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ФАКТОРОВ
РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА, РЕЦЕПТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ,
РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ И ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ
ФАКТОРОВ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

Читинская государственная медицинская академия, г. Чита,
Российская Федерация

Цель. Проанализировать частоту встречаемости полиморфизмов генов NOS 786CT, END1 Lys198Ash, ITGB3 1565TC (Leu33Pro), F5 1691GA, F2 20210GA, MMP9 8202AG, MTHFR A1298C, VEGFA 634CG при синдроме диабетической стопы.

Материалы и методы. В исследование было включено 198 пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и 199 больных с развитием синдрома диабетической стопы. Генотипирование исследованных полиморфизмов генов выполнялось методом полимеразной цепной реакции.

Результаты. У пациентов с неосложненным сахарным диабетом и у больных с диабетической стопой не выявлено значимых различий в частоте встречаемости полиморфизмов 786CT гена eNOS3, Lys198Ash гена END1, 1691GA гена F5, 20210GA гена F2, 8202AG гена MMP9, 634CG гена VEGFA и их аллельных вариантов. Ассоциативной связи между полиморфизмами генов NOS 786CT, END1 Lys198Ash, F5 1691GA, F2 20210GA, MMP9 8202AG, VEGFA 634CG и развитием синдрома диабетической стопы нами не выявлено. При развитии диабетической стопы чаще, чем при неосложненном сахарном диабете, встречался гетерозиготный вариант полиморфизма 1565TC гена ITGB3 (37,7% и 28,3% соответственно ($\chi^2=6,243$, $p=0,045$)). Риск развития диабетической стопы при носительстве указанного полиморфизма в 1,5 раза выше, чем при других вариантах полиморфизма гена ($OR=1,534$ (95% CI 1,006 – 2,338), $p=0,05$). Полиморфизм 1298 AC гена MTHFR чаще выявлялся в группе пациентов с неосложненным сахарным диабетом, чем в группе с развитием диабетической стопы (45,4% и 29,1%, $\chi^2=11,55$, $p=0,004$).

Заключение. Развитие синдрома диабетической стопы сопряжено с носительством гетерозиготного полиморфизма 1565TC гена ITGB3, при котором в 1,5 раза повышается вероятность развития данного осложнения. При сахарном диабете без осложнений выявлено более частое носительство гетерозиготного полиморфизма 1298 AC гена MTHFR, что, возможно, имеет протективный эффект в отношении развития синдрома диабетической стопы.

Ключевые слова: диабетическая стопа, полиморфизм генов, сосудистый тонус, рецепторы тромбоцитов, ремоделирование, протромботические факторы

Objective. To analyze the frequency of occurrence of eNOS 786C>T, END1 Lys198Ash, ITGB3 1565T>C (Leu33Pro), F5 1691G>A, F2 20210G>A, MMP9 8202A>G, MTHFR A 1298 C, VEGFA 634C>G gene polymorphisms in diabetic foot syndrome.

Methods. The study included patients (n=198) with uncomplicated diabetes mellitus and patients (n=199) with the development of diabetic foot syndrome. Genotyping of the studied gene polymorphisms was performed by the polymerase chain reaction method.

Results. In patients with uncomplicated diabetes mellitus and in patients with diabetic foot, no significant differences were found in the frequency of occurrence of polymorphisms 786C>T of the eNOS3 gene, Lys198Ash of the END1 gene, 1691G>A of the F5 gene, 20210G>A of the F2 gene, 8202A>G of the MMP9 gene, 634C>G of the VEGFA gene and their allelic variants. Associative relationship between the polymorphisms of the NOS 786C>T, END1 Lys198Ash, F5 1691G>A, F2 20210G>A, MMP9 8202A>G, VEGFA 634C>G genes and the development of diabetic foot syndrome was not found. With the development of a diabetic foot, a heterozygous variant of the 1565TC polymorphism of the ITGB3 gene was more common than in uncomplicated diabetes mellitus (37.7% and 28.3%, respectively ($\chi^2=6.243$, $p=0.045$)). The risk of developing a diabetic foot with the carriage of this polymorphism is 1.5 times higher than with other variants of gene polymorphism (($OR=1.534$ (95% CI 1.006 – 2.338), $p<0.05$). Polymorphism 1298 AS of the MTHFR gene was more often detected in the group of patients with uncomplicated diabetes mellitus than in the group with the development of diabetic foot (45.4% and 29.1%), ($\chi^2=11.55$, $p=0.004$).

Conclusion. The development of diabetic foot syndrome is associated with the carriage of the heterozygous 1565TC polymorphism of the ITGB3 gene, in which the likelihood of developing this complication increases 1.5 fold. In diabetes mellitus without complications, a more frequent carriage of the heterozygous polymorphism 1298 AC of the MTHFR gene was revealed, which may have a protective effect against the development of diabetic foot syndrome.

Keywords: diabetic foot, gene polymorphism, vascular tone, platelet receptors, remodeling, prothrombotic factors



Научная новизна статьи

Изучена частота встречаемости полиморфизмов генов факторов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов и их аллельных вариантов при синдроме диабетической стопы. Установлено, что частота гетерозиготного полиморфизма 1565TC гена ITGB3 при развитии диабетической стопы в 1,3 раза выше, чем при неосложненном течении заболевания. Выявлено, что носительство указанного варианта полиморфизма гена ITGB3 сопряжено с риском развития данного осложнения сахарного диабета. При наличии гетерозиготного полиморфизма 1565TC гена ITGB3 риск развития синдрома диабетической стопы возрастает в 1,5 раза, чем при носительстве других вариантов полиморфизма T1565C гена ITGB3. Установлено, что при неосложненном течении заболевания в 1,6 раза чаще, чем при развитии синдрома диабетической, стопы встречается гетерозиготный генотип 1298 AC гена MTHFR.

What this paper adds

The frequency of occurrence of genetic polymorphisms for regulating vascular tone, platelet receptors, vascular wall remodeling and prothrombotic factors and their allelic variants in diabetic foot syndrome was studied. It was found that the frequency of heterozygous 1565TC polymorphism of the ITGB3 gene in the development of diabetic foot is 1.3 fold higher than in the uncomplicated course of the disease. It was revealed that the frequency of this variant of the ITGB3 gene polymorphism is associated with the risk of developing this complication of diabetes mellitus. In the presence of the heterozygous 1565TC polymorphism of the ITGB3 gene, the risk of developing diabetic foot syndrome increases by 1.5 fold than with the carriage of other variants of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene. It was found that in the uncomplicated course of the disease, the heterozygous genotype 1298 AC of the MTHFR gene occurs 1.6 fold more often than in the development of diabetic foot syndrome.

Введение

Ежегодно заболеваемость сахарным диабетом неуклонно растет, в 2017 г. во всем мире насчитывалось около 425 млн. человек, страдающих данной патологией, а к 2045 г. прогнозируется увеличение количества больных данной патологией до 629 млн. человек [1].

Помимо высокой распространенности сахарного диабета, огромной проблемой является развитие большого количества осложнений сахарного диабета, приводящих к инвалидизации и смерти больных. Среди них особое значение отводится синдрому диабетической стопы, развивающемуся у 30-80% пациентов, связанному с высоким риском ампутации нижней конечности, инвалидизацией, высокой послеоперационной летальностью и 5-летней смертностью в 43-55% случаев и ухудшением качества жизни больных [2]. По различным данным, в мире каждые 20 секунд выполняется ампутация по поводу данного осложнения сахарного диабета [3].

Диагностика синдрома диабетической стопы на ранней стадии при отсутствии клинических проявлений является одной из актуальных проблем современной медицины. Все используемые в настоящий момент методы направлены на подтверждение уже имеющихся патологических изменений стоп на фоне специфических изменений кожи, нервов, кровеносных сосудов, костей [3].

К настоящему времени изучены многие аспекты патогенеза развития диабетической

стопы, среди них – влияние гипергликемии на развитие сосудистых осложнений сахарного диабета, развитие микроангиопатии под влиянием эндотелиальной дисфункции, окислительного стресса, нарушений гемостаза, нарушение процессов ангиогенеза, ремоделирования сосудистой стенки, влияние дислипидемии и многие другие [2, 3]. Известно, что выработка всех биологически активных веществ кодируется различными генами. Наличие полиморфных вариантов одного и того же гена может существенно влиять на функцию кодируемого соединения, что приведет в дальнейшем к развитию патологического процесса.

В настоящее время для реализации основных принципов современной персонализированной медицины актуальными являются исследования, посвященные поиску генетических детерминант мультифакториальных заболеваний, к которым относится сахарный диабет и его осложнения, в качестве маркеров риска развития синдрома диабетической стопы.

Цель. Проанализировать частоту встречаемости полиморфизмов генов eNOS 786C>T, END1 Lys198Ash, ITGB3 1565T>C (Leu33Pro), F5 1691G>A, F2 20210G>A, MMP9 8202A>G, MTHFR A1298C, VEGFA 634C>G при синдроме диабетической стопы.

Материал и методы

Проводимое исследование было одобрено Этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол

заседания № 74 от 06.11.2015), соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013). Научная работа выполнялась на базе Городской клинической больницы № 1 г. Читы в период с 2016 по 2018 г. В клиническую группу вошли 199 пациентов со смешанной формой синдрома диабетической стопы, в группу сравнения были включены 198 больных сахарным диабетом. Все пациенты, принявшие участие в исследовании, дали на это добровольное письменное информированное согласие. Критериями включения являлись: наличие сахарного диабета 2 типа, возраст больных от 50 до 75 лет.

Диагноз сахарного диабета у всех пациентов был выставлен на основании критериев, обозначенных в клинических рекомендациях «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом», утвержденных Минздравом России (2015 г.).

Генотипирование исследуемых полиморфизмов проведено на геномной ДНК, выделенной из лейкоцитов цельной крови с использованием реагента «Проба Рапид» производства ООО «ДНК-Технология» (г. Москва). Исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Амплификатор «ДТ-96», ЗАО «НПФ ДНК-Технология», г. Москва) с использованием набора реактивов: eNOS 786C>T, END1 Lys198Ash, ITGB3 1565T>C (Leu33Pro), F5 1691G>A, F2 20210G>A, MMP9 8202A>G, MTHFR 1298A>C, VEGFA-634C>G (ООО Научно-производственная фирма «Литех», г. Москва) согласно инструкции производителя. Генетические исследования проводились на базе НИИ молекулярной медицины Читинской государственной медицинской академии.

Статистика

При проведении статистического анализа авторы руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений, процентных долей, десятичной доли единицы. Оценка статистической значимости различий показателей исследования проводилась за счет построения произвольной таблицы сопряженности с использованием критерия χ^2 Пирсона. Зависимость относительных показателей оценивалась путем сравнения полученного значения критерия χ^2 Пирсона с критическим (определяло уровень значимости p). Учитывая

наличие результативных и факторных признаков, проспективный анализ исследования, оценку значимости различий показателей проводили за счет определения отношения шансов (OR). Статистическая значимость отношения шансов оценивалась исходя из значений 95% доверительного интервала (95% CI). Значение уровня двухсторонней значимости $p=0,05$ рассматривалось как статистически значимое. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0».

Результаты

Частота генотипов обследованных пациентов соответствовала равновесию Харди-Вайнберга, что позволило нам сравнивать носительство этих мутаций в исследуемых группах.

Полученные результаты исследований представлены в таблице.

По полученным нами данным, у пациентов с сахарным диабетом без диабетической стопы и у пациентов с развитием данного осложнения не выявлено статистически значимых различий в частоте встречаемости полиморфизма 786C>T гена eNOS3 и его аллельных вариантов. Большинство обследованных в группе сравнения и в клинической группе являлись носителями полиморфизма 786CC гена eNOS3: 44,9% и 43,7% соответственно. При сравнении гетерозиготный тип полиморфизма 786CT гена eNOS3 выявлен у 39,9% пациентов с сахарным диабетом и у 41,7% с развитием диабетической стопы. Гомозиготный вариант полиморфизма 786TT eNOS3 выявлен у 15,2% больных группы сравнения и у 14,6% пациентов в клинической группе. При анализе значений отношения шансов, доверительного интервала нами не выявлено ассоциативных связей между генетическими полиморфизмами и развитием синдрома диабетической стопы.

По данным результатов исследования, нами не выявлено статистически значимых различий частоты встречаемости полиморфизмов Lys198Ash гена END1 и его аллельных вариантов у пациентов с неосложненным сахарным диабетом и при развитии диабетической стопы. В исследуемых группах преобладал гомозиготный вариант полиморфизма 198 Lys/Lys гена END1 : 61,6% при сахарном диабете и 60,3% при синдроме диабетической стопы. Частота носительства гетерозиготного типа полиморфизма 198 Lys/Ash гена END1 составила 31,8% в группе сравнения и 33,7% — в клинической группе. Вариант полиморфизма 198 Ash/Ash гена END1 при сахарном диабете встречался в 6,6% слу-

чаев, при развитии синдрома диабетической стопы – в 6,0%. Нами не выявлено достоверно значимой связи частоты исследованных типов полиморфизма Lys198Ash с развитием диабетической стопы.

Согласно результатам нашего исследования, выявлены значимые различия между частотой встречаемости вариантов полиморфизма 1565T>C гена ITGB3. При неосложненном сахарном диабете распространенность нормального гомози-

Таблица

Частота генотипов полиморфизмов и аллелей в исследуемых группах (df=2)

Генотипы	Пациенты с сахарным диабетом (n=198)	Пациенты с синдромом диабетической стопы (n=199)	χ^2	p	OR (95% CI)
eNOS3 786C>T					
Генотип C/C	44,9%(89/198)	43,7%(87/199)			0,951(0,64-1,414)
Генотип C/T	39,9%(79/198)	41,7%(83/199)			1,078(0,722-1,609)
Генотип T/T	15,2% (30/198)	14,6% (29/199)	0,136	0,935	0,955(0,549-1,661)
Аллель С	0,61	0,618	0,021	0,885	1,043(0,59-1,844)
Аллель Т	0,39	0,382			0,959(0,542-1,695)
END1 Lys198Ash					
Генотип Lys/ Lys	61,6%(122/198)	60,3%(120/199)			0,946(0,632-1,416)
Генотип Lys/ Ash	31,8%(63/198)	33,7%(67/199)			1,088(0,715-1,654)
Генотип Ash/ Ash	6,6%(13/198)	6% (12/199)	0,177	0,916	0,913(0,406-2,054)
Аллель Lys	0,743	0,755	0,026	0,872	1,054(0,558-1,991)
Аллель Ash	0,257	0,245			0,949(0,502-1,792)
ITGB31565T>C (Leu33Pro)					
Генотип T/T	71,2%(141/198)	60,3%(120/199)			0,614(0,404-0,933)
Генотип T/C	28,3%(56/198)	37,7%(75/199)	6,243	0,045	1,534(1,006-2,338)
Генотип C/C	0,5% (1/198)	2% (4/199)			4,041(0,448-36,48)
Аллель Т	0,776	0,859	2,168		1,733(0,829-3,62)
Аллель С	0,224	0,141		0,141	0,577(0,276-1,206)
F5 1691G>A					
Генотип G/G	96%(190/198)	94%(187/199)			0,656(0,262-1,642)
Генотип G/A	4% 8/198)	6% (12/199)	0,821	0,365	1,524(0,609-3,813)
Генотип A/A	0	0			-
Аллель G	0,98	0,97	0,205	0,651	0,66 (0,108-4,037)
Аллель А	0,02	0,03			1,515 (0,248-9,27)
F2 20210 G>A					
Генотип G/G	97%(192/198)	95,5%(190/199)			0,66(0,23-1,89)
Генотип G/A	3% (6/198)	4,5%(9/199)	0,608	0,436	1,516(0,529-4,342)
Генотип A/A	0	0			-
Аллель G	0,98	0,96	0,687	0,408	0,49(0,088-2,737)
Аллель А	0,02	0,04			2,042(0,365-11,408)
MMP9 8202 A>G					
Генотип A/A	35,4%(70/198)	30,1%(60/199)			0,789(0,519-1,202)
Генотип A/G	35,8%(71/198)	32,7%(65/199)			0,868(0,573-1,314)
Генотип G/G	28,8%(57/198)	37,2%(74/199)	3,238	0,199	1,464(0,961-2,231)
Аллель А	0,492	0,549	0,721	0,396	1,272(0,73-2,218)
Аллель G	0,508	0,451			0,786(0,451-1,37)
MTHFR1298 A>C					
Генотип A/A	41,4%(82/198)	52,8%(103/199)			1,439(0,966-2,145)
Генотип A/C	45,4%(90/198)	29,1%(58/199)	11,55	0,004	0,494(0,326-0,747)
Генотип C/C	13,1%(26/198)	19,9%(38/199)			1,561(0,907-2,688)
Аллель А	0,64	0,563	1,947	0,163	0,716(0,406-1,263)
Аллель С	0,36	0,437			1,397(0,792-2,465)
VEGFA634 C>G					
Генотип G/G	56,6%(112/198)	59,8%(119/199)			1,142(0,766-1,702)
Генотип G/C	34,3%(68/198)	33,7%(67/199)			0,97(0,641-1,47)
Генотип C/C	9,1%(18/198)	6,5%(13/199)	1,023	0,6	0,699(0,333-1,468)
Аллель G	0,698	0,745	0,397	0,529	1,22(0,657-2,264)
Аллель С	0,302	0,255			0,82(0,442-1,522)

Примечание: n – количество обследованных, χ^2 – хи-квадрат, OR – odds ratio (отношение шансов), 95 % CI – 95 % доверительный интервал OR, p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

готного типа полиморфизма 1565TT гена ITGB3 была выше, чем при развитии диабетической стопы, и составила 71,2%. В то же время, при развитии диабетической стопы чаще, чем при сахарном диабете без осложнений, встречался гетерозиготный вариант полиморфизма 1565TC гена ITGB3 (37,7 % и 28,3% соответственно ($\chi^2=6,243$, $p=0,045$)). Нами выявлено, что риск развития диабетической стопы при носительстве полиморфизма 1565TC гена ITGB3 в 1,5 раза выше, чем при других полиморфных вариантах указанного гена ($OR=1,534$ (95 % CI 1,006 – 2,338), $p=0,05$). По частоте встречаемости мутантного гомозиготного типа полиморфизма 1565TT гена ITGB3 и аллельных вариантов гена значимых различий между группами не выявлено.

При анализе частоты встречаемости полиморфизмов гена F5 1691G>A и его аллельных вариантов статистически значимых различий между пациентами обследуемых групп не выявлено. Гомозиготный вариант полиморфизма 1691GG гена F5 выявлен у 96% пациентов с сахарным диабетом и у 94% пациентов с синдромом диабетической стопы. Гетерозиготный тип полиморфизма 1691GA гена F5 был обнаружен в 4% случаев в группе сравнения и в 6% случаев в клинической группе. Гомозиготный вариант полиморфизма 1691AA гена F5 у обследуемых пациентов выявлен не был.

По полученным нами данным, статистически значимых различий в частоте встречаемости полиморфизма 20210 G>A гена F2 и его аллельных вариантов у больных с сахарным диабетом без осложнений и с развитием синдрома диабетической стопы не выявлено. Большинство пациентов в обследуемых группах имели гомозиготный вариант полиморфизма 20210GG гена F2: 97% и 95,5% соответственно. Гетерозиготный тип полиморфизма 20210GA гена F2 был выявлен у 3% пациентов в группе сравнения и у 4,5% в клинической группе. Мутантный гомозиготный тип полиморфизма гена F220210 AA в обследуемых группах выявлен не был.

По данным нашего исследования, у пациентов сравниваемых групп не было выявлено статистически значимых отличий в распространенности генотипов 8202 AA, 8202 AG и 8202 GG гена MMP9 и его аллельных вариантов. Среди пациентов с сахарным диабетом гомозиготный вариант полиморфизма 8202 AA гена MMP9 встречался в 35,4%, при развитии диабетической стопы – в 30,1% случаев. Гетерозиготный тип полиморфизма 8202 AG гена MMP9 был выявлен у 35,8% пациентов в группе сравнения и 32,7% в клинической группе. Гомозиготный вариант полиморфизма 8202 GG гена MMP9 у обследуемых пациентов определялся

в 28,8% случаев при неосложненном сахарном диабете и в 37,2% случаев при развитии синдрома диабетической стопы.

Исследование частоты встречаемости полиморфизма MTHFR 1298 A>C выявило, что гомозиготный вариант полиморфизма 1298 AA гена MTHFR определялся у 41,4% пациентов с сахарным диабетом без осложнений и у 52,8% больных с диабетической стопой. Вместе с тем гетерозиготный тип полиморфизма 1298 AC гена MTHFR чаще выявлялся в группе с неосложненным сахарным диабетом, чем в группе с развитием диабетической стопы (45,4% и 29,1%), что является статистически значимым ($\chi^2=11,55$, $p=0,004$). Мутантный гомозиготный генотип 1298 CC гена MTHFR определялся в 13,3% случаев при неосложненном сахарном диабете и в 19,9% случаев при синдроме диабетической стопы. Статистически значимых различий по частоте встречаемости аллельных вариантов данного гена нами не выявлено.

По полученным нами данным, статистически значимых различий частоты распространенности полиморфизма 634 C>G гена VEGFA и его аллельных вариантов не выявлено. Гомозиготный вариант полиморфизма 634 CC гена VEGFA у пациентов с неосложненным сахарным диабетом встречался в 56,6% случаев, при развитии синдрома диабетической стопы – в 60,3%. Гетерозиготный тип полиморфизма 634 CG гена VEGFA определялся в 34,3% случаев в группе сравнения и в 33,7% – в клинической группе. Мутантный гомозиготный вариант полиморфизма 634 GG гена VEGFA при неосложненном сахарном диабете составил 9,1%, при развитии синдрома диабетической стопы – 6,5%.

Обсуждение

Важнейшая физиологическая роль оксида азота в жизнедеятельности клетки обусловлена его участием в регуляции тонуса сосудов, модуляции процессов ангиогенеза и регенерации, ингибировании адгезии форменных элементов крови к эндотелию и различными другими эффектами. Регуляторное воздействие оксида азота в организме человека осуществляется его генерацией из L-аргинина за счет фермента NO-синтазы (NOS) [4]. Являясь продуктами экспрессии соответствующих генов (NOS1-3), определенные изоформы NO-синтазы могут обеспечивать различную концентрацию NO в организме и таким образом определять его функцию как физиологического регулятора либо как токсического агента[5].

В ряде работ проводилось исследование ассоциации полиморфизма T786C гена eNOS и его

аллельных вариантов с диабетической ретинопатией. По данным Zhao S. и соавторов, 2012 г., обнаружена ассоциация между аллелем а4 полиморфизма 4а/б и сниженным риском диабетической ретинопатии. Носительство аллели С выше указанного полиморфизма гена eNOS может быть защитным фактором развития пролиферативной диабетической ретинопатии [6].

Значительную роль в регуляции сосудистого тонуса играют эндотелины. Они являются мощными вазоконстрикторами и представляют собой группу биологически активных пептидов, имеющих 3 изоформы. Биологические эффекты эндотелина-1 приводят к нарушению периферического кровоснабжения, способствуя развитию гнойно-некротических поражений тканей и нарушению процессов репарации при сахарном диабете [7]. Мутации в гене END1, приводящие к изменению концентрации эндотелина-1, могут способствовать развитию дисфункции эндотелия.

По данным литературы, имеются единичные исследования ассоциации частот генотипов полиморфизмов гена END1 с развитием осложнений сахарного диабета. По данным Seruga M. и соавторов, 2017 г., исследована ассоциация диабетической нефропатии при диабете 2 типа и полиморфизмов rs5370, rs1476046 и rs3087459 гена END1. Установлено отсутствие взаимосвязи между изучаемыми полиморфизмами гена END1 и вышеуказанным осложнением сахарного диабета [8].

Повышение свертываемости крови и агрегации тромбоцитов являются одним из факторов развития микро- и макроангиопатий при сахарном диабете, приводящих к развитию синдрома диабетической стопы [2]. Процесс агрегации тромбоцитов заканчивается конформационным изменением комплекса GPIIb/IIIa, преобразующегося в рецептор для фибриногена. Субъединица GPIIa кодируется геном ITGB3. У носителей аллеля 1565С полиморфизма T1565C данного гена регистрируется более высокая степень агрегации тромбоцитов, что лежит в основе предрасположенности к развитию атеротромбоза [9].

В исследованиях Муслимовой Э.Ф., 2016 г., описана ассоциация аллеля 1565С гена ITGB3 с риском развития ИБС [7]. В исследованиях Богатыревой К.Б. и соавторов, 2018 г., выявлена ассоциация минорного аллеля С полиморфизма T1565C гена ITGB3 с более ранним развитием рестеноза коронарных артерий, диффузным поражением коронарного русла и наличием окклюзий стентов [10].

Фактор свертывания крови V (F5) обладает прокоагулянтными и антикоагулянтными свой-

ствами и является кофактором протромбиназного комплекса, который катализирует превращение протромбина в тромбин. Полиморфизм гена фактора V G1691A связан с развитием резистентности к антикоагулянтному действию протеина С и постоянным, генетически обусловленным риском развития тромботических состояний [11].

Фактор свертывания II, или протромбин, является предшественником сериновой протеазы тромбина, фермента, участвующего в процессе свертывания крови и имеющего прокоагулянтную, антикоагулянтную, а также антифибринолитическую активность. Протромбин принимает участие в заключительном этапе свертывающего каскада, превращаясь под действием FXa в тромбин [11]. При наличии мутации в гене протромбина происходит замена гуанина на аденин в позиции 20210, что приводит к повышению уровня протромбина в плазме на 30% и к увеличению риска венозного или артериального тромбоза [12].

В изученной литературе имеются единичные работы, посвященные изучению полиморфизмов G1691A гена F5 и G20210A гена FII при развитии осложнений сахарного диабета. В работе Сибиревой О.Ф. и соавторов, 2010 г., изучена частота генотипов полиморфизма G1691A гена F5 и G20210A в гене FII пациентов с диабетической нефропатией у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа и здоровых лиц. Установлено, что чаще мутации указанных генов отмечаются при развитии нефропатии. Вероятность развития данного осложнения возрастает при наличии мутации Лейдена у пациентов с сахарным диабетом 1 типа, а у пациентов с сахарным диабетом 2 типа повышается в связи с однонуклеотидной заменой G20210A гена F2. Наличие полиморфизмов 20210G/A гена F2, 1691G/A гена F5 у больных диабетической нефропатией ассоциировано с ускорением прогрессирования почечной недостаточности [13].

Матриксная металлопротеиназа-9 (MMP9) относится к группе желатиназ и принимает активное участие в деградации коллагена IV типа. Ген MMP9 кодирует фермент коллагеназу (желатиназу В), влияющую на состояние соединительной ткани внеклеточного матрикса и отвечающую за их синтез и деградацию [14].

В исследовании, проведенном Singh K. и соавторами, 2013 г., изучалась ассоциация полиморфизма C1562T гена MMP9 с развитием синдрома диабетической стопы в индийской популяции. По полученным данным, у пациентов с развитием данного осложнения сахарного диабета и в контрольной группе имеются

значимые различия в частоте встречаемости аллелей указанного полиморфизма гена MMP9. По данным авторов, полиморфизм C1562T гена MMP9 связан с риском развития синдрома диабетической стопы [15].

Метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) — внутриклеточный фермент, участвующий в превращении гомоцистина в метионин. В результате нуклеотидных замен в гене, кодирующем MTHFR, активность данного фермента может снижаться и приводить к снижению метилирования и избыточному накоплению в клетке гомоцистеина [16].

В литературе имеются немногочисленные данные об изучении частоты полиморфизма A1298C гена MTHFR и развития осложнений сахарного диабета. Так, в работах М. Rahimi и соавторов, 2010 г., исследовался вклад данной мутации гена MTHFR в прогрессирование диабетической нефропатии у курдского населения западного Ирана. Ими были получены данные о том, что носительство аллеля 1298C ассоциировано с увеличением риска макроальбуминурии. Прогрессирование нефропатии более часто наблюдалось при наличии генотипа 1298CC [17].

Известно, что дисфункция эндотелия имеет существенное значение в патогенезе развития синдрома диабетической стопы [2]. Дисфункция сосудистого эндотелиального фактора роста А (VEGFA), являющегося мощным митогеном клеток эндотелия сосудов, обеспечивающего миграцию эндотелиоцитов, их инвазию в коллагеновый гель и образование новых сосудов, является одним из компонентов в развитии ангиопатий при данной патологии [18]. Изменение полиморфизма данного гена может существенно отразиться на продукции данного фактора.

В литературных источниках имеются противоречивые данные о связи различных полиморфных локусов гена VEGFA с развитием синдрома диабетической стопы. В работе Русанова А.В. и соавторов, 2019 г., посвященной изучению взаимосвязи полиморфизма C936T гена VEGFA и развития синдрома диабетической стопы в украинской популяции, не было выявлено ассоциации генотипов указанного полиморфизма гена VEGFA с развитием данного осложнения сахарного диабета [18]. В работах некоторых авторов показана протективная роль полиморфных локусов C2578A, rs 699947, G634C указанного гена относительно развития риска синдрома диабетической стопы [19].

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что частота встречаемо-

сти полиморфизмов генов eNOS 786C>T, END1 Lys198Ash, F5 1691G>A, F2 20210G>A, MMP9 8202A>G, VEGFA 634C>G и их аллельных вариантов среди пациентов с сахарным диабетом и развитием диабетической стопы достоверно не отличается. Ассоциативная связь между указанными генетическими маркерами и развитием синдрома диабетической стопы не выявлена. Частота гетерозиготного генотипа 1565TC гена ITGB3 при развитии сахарного диабета в 1,3 раза выше, чем выявляемость аналогичного генотипа при неосложненном течении заболевания. Носительство данного варианта генотипа сопряжено с риском развития диабетической стопы. При наличии гетерозиготного генотипа 1565TC гена ITGB3 относительный риск развития данного осложнения сахарного диабета возрастает в 1,5 раза по сравнению с другими вариантами полиморфизмов. Вместе с тем при неосложненном течении заболевания в 1,6 раза чаще, чем при развитии синдрома диабетической стопы, выявляется гетерозиготный генотип 1298 AC гена MTHFR.

Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований Читинской государственной медицинской академии. Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов авторы не получили.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

Этические аспекты.

Одобрение комитета по этике

Исследование одобрено этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол заседания № 74 от 06.11.2015 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine (Abingdon)*. 2014 Dec;42(12):698-702. doi: 10.1016/j.mpmed.2014.09.007
2. Рундо АИ. Современные аспекты этиологии и патогенеза синдрома диабетической стопы. *Новости Хирургии*. 2015;23(1):97-104. doi: 10.18484/2305-0047.2015.1.97
3. Veves A, Giurini JM, Guzman RJ, eds. The Diabetic Foot. Medical and Surgical Management. 4-th ed. Humana Press; 2018. 515 p. doi: 10.1007/978-3-319-89869-8

4. Пожилова ЕВ, Новиков ВЕ. Синтаза оксида азота и эндогенный оксид азота в физиологии и патологии клетки. *Вестн СмГМА*. 2015;14(4):35-41. <https://cyberleninka.ru/article/n/sintaza-okside-azota-i-endogennyi-oksid-azota-v-fiziologii-i-patologii-kletki>
5. Wang X, Guo Z, Ding Z, Khaidakov M, Lin J, Xu Z, Sharma SG, Jiواني S, Mehta JL. Endothelin-1 upregulation mediates aging-related cardiac fibrosis. *J Mol Cell Cardiol*. 2015 Mar;80:101-9. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.01.001
6. Zhao S, Li T, Zheng B, Zheng Z. Nitric oxide synthase 3 (NOS3) 4b/a, T-786C and G894T polymorphisms in association with diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis. *Ophthalmic Genet*. 2012 Dec;33(4):200-7. doi: 10.3109/13816810.2012.675398
7. Муслимова ЭФ. Ассоциация полиморфизмов генов NOS3 и ITGB3 с риском развития ишемической болезни сердца. *Сиб Журн Клин и Эксперим Медицины*. 2016;31(2):22-25. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2016-31-2-22-25>
8. Šeruga M, Kariž S, Makuc J, Završnik M, Čilenšek I, Gazdikova K, Caprnda M, Kruzliak P, Petrovi D. Endothelin-1 Gene Polymorphisms rs5370, rs1476046, and rs3087459 are not Associated with Diabetic Nephropathy in Caucasians with Type 2 Diabetes Mellitus. *Folia Med (Plovdiv)*. 2017 Sep 1;59(3):261-69. doi: 10.1515/folmed-2017-0033
9. Яковлева ЕВ, Коняшина НИ, Горгидзе ЛА, Сурин ВЛ, Пшеничникова ОС, Полеводова ОА, Спирин МВ, Галстян ГМ, Зозуля НИ. Наследственный дефицит фактора свертывания крови V: клинические наблюдения. *Гематология и Трансфузиология*. 2019;64(4):489-503. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503>
10. Богатырева КБ, Азова ММ, Агаджанян АВ, Цховребова ЛВ, Аит АА, Шугушев ЗХ. Ассоциация полиморфизма T1565C гена ITGB3 с развитием атеросклероза и ин-стент рестеноза коронарных артерий у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца. *Научные Результаты Биомед Исследований*. 2018;4(4):3-9. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-1
11. Колосков АВ, Чернова ЕВ. Клиническое значение полиморфизма генов фактора V и протромбина. *Гематология и Трансфузиология*. 2018;63(3):250-57. <https://doi.org/10.25837/НАТ.2019.63.13.004>
12. Омельченко ВО, Летягина ЕА, Шевченко АВ, Коненков ВИ, Поспелова ТИ, Королев МА. Ассоциация полиморфизмов промоторных участков генов MMP2, MMP3 и MMP9 с факторами сердечно-сосудистого риска у больных ревматоидным артритом. *J Sib Med Sci*. 2019;(1):109-18. doi: 10.31549/2542-1174-2019-1-109-118
13. Сибирева ОФ, Хитринская ЕЮ, Калюжин ВВ, Сазонов АЭ, Иванчук ИИ, Гранкина ВЮ. Полиморфизм генов II, V факторов свертывания крови и метилентетрагидрофолатредуктазы у больных с диабетической нефропатией: распространенность, клиническое и прогностическое значение. *Сахар Диабет*. 2010;13(1):6-9. <https://doi.org/10.14341/2072-0351-6009>
14. Moll S, Varga EA. Homocysteine and MTHFR Mutations. *Circulation*. 2015 Jul 7;132(1):e6-9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013311
15. Singh K, Agrawal NK, Gupta SK, Singh K. A functional single nucleotide polymorphism -1562C>T in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with type 2 diabetes and diabetic foot ulcers. *Int J Low Extrem Wounds*. 2013 Sep;12(3):199-204. doi: 10.1177/1534734613493289
16. Бицадзе ВО, Самбурова НВ, Макацария НА, Мищенко АЛ. Фолатдефицитные состояния в акушерской практике и проблема их коррекции. *Акушерство Гинекология и Репродукция*. 2016;10(1):38-48. doi: 10.17749/2313-7347.2015.10.1.038-048
17. Rahimi M, Hasanvand A, Rahimi Z, Vaisi-Raygani A, Mozafari H, Rezaei M, Zargooshi J, Najafi F, Shakiba E. Synergistic effects of the MTHFR C677T and A1298C polymorphisms on the increased risk of micro- and macro-albuminuria and progression of diabetic nephropathy among Iranians with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*. 2010 Nov;43(16-17):1333-39. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.08.019
18. Русанов АВ, Чумаченко ЯД, Дубовик ЕИ, Гарбузова ВЮ, Атаман АВ. Анализ связи C936T-полиморфного сайта гена VEGFA с развитием синдрома диабетической стопы в украинской популяции. *Науч Результаты Биомед Исследований*. 2019;5(2):34-42. doi: 10.18413/2658-6533-2019-5-2-0-4
19. Li X, Lu Y, Wei P. Association between VEGF genetic variants and diabetic foot ulcer in Chinese Han population: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2018 May;97(20):e10672. doi: 10.1097/MD.00000000000010672

REFERENCES

1. Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine (Abingdon)*. 2014 Dec;42(12):698-702. doi: 10.1016/j.mpmed.2014.09.007
2. Rundo AI. Some modern aspects of etiology and pathogenesis of diabetic foot syndrome. *Novosti Khirurgii*. 2015;23(1):97-104. doi: 10.18484/2305-0047.2015.1.97 (In Russ.)
3. Veves A, Giurini JM, Guzman RJ, eds. The Diabetic Foot. Medical and Surgical Management. 4-th ed. Humana Press; 2018. 515 p. doi: 10.1007/978-3-319-89869-8
4. Pozhilova EV, Novikov VE. Physiological and pathological value of cellular synthase of nitrogen oxide and endogenous nitrogen oxide. *Vestnik SmGMA* 2015;14(4):35-41. <https://cyberleninka.ru/article/n/sintaza-okside-azota-i-endogennyi-oksid-azota-v-fiziologii-i-patologii-kletki> (In Russ.)
5. Wang X, Guo Z, Ding Z, Khaidakov M, Lin J, Xu Z, Sharma SG, Jiواني S, Mehta JL. Endothelin-1 upregulation mediates aging-related cardiac fibrosis. *J Mol Cell Cardiol*. 2015 Mar;80:101-9. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.01.001
6. Zhao S, Li T, Zheng B, Zheng Z. Nitric oxide synthase 3 (NOS3) 4b/a, T-786C and G894T polymorphisms in association with diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis. *Ophthalmic Genet*. 2012 Dec;33(4):200-7. doi: 10.3109/13816810.2012.675398
7. Muslimova E.F. Association between nos3 and itgb3 polymorphisms and the risk of coronary artery disease. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2016;31(2):22-25. (In Russ.) <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2016-31-2-22-25> (In Russ.)
8. Šeruga M, Kariž S, Makuc J, Završnik M, Čilenšek I, Gazdikova K, Caprnda M, Kruzliak P, Petrovi D. Endothelin-1 Gene Polymorphisms rs5370, rs1476046, and rs3087459 are not Associated with Diabetic Nephropathy in Caucasians with Type 2 Diabetes Mellitus. *Folia Med (Plovdiv)*. 2017 Sep 1;59(3):261-69. doi: 10.1515/folmed-2017-0033

9. Yakovleva EV, Konyashina NI, Gorgidze LA, Surin VL, Pshenichnikova OS, Polevodova OA, Spirin MV, Galstyan GM, Zozulya NI. Congenital factor V deficiency: case reports. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2019;64(4):489–503. (In Russ.) <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503> (In Russ.)
10. Bogatyreva KB, Azova MM, Aghajanyan AV, Leila V. Tskhovrebova LV, Ait AA, Shugushev ZKh. Association of the ITGB3 gene T1565C polymorphism with the development of atherosclerosis and in-stent restenosis in patients with stable coronary artery disease. *Nauchnye Rezul'taty Biomed Issledovaniy*. 2018;4(4):3-9. doi: 10.18413/2313-8955 (In Russ.)
11. Koloskov AV, Chernova EV. Clinical significance of factor V and prothrombin genes polymorphism. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2018;63(3):250-257. <https://doi.org/10.25837/HAT.2019.63.13.004> (In Russ.)
12. Omelchenko VO, Letyagina EA, Shevchenko AV, Konenkov VI, Pospelova TI, Korolev MA. Association of polymorphisms in the promoter regions of MMP2, MMP3 and MMP9 genes with cardiovascular risk factors in patients with rheumatoid arthritis. *J Sib Med Sci*. 2019;(1):109-118. <https://doi.org/10.31549/2542-1174-2019-1-109-11> (In Russ.)
13. Sibireva OF, Khitrinskaya EYu, Kalyuzhin VV, Sazonov AE, Ivanchuk II, Grankina VYu. Coagulation factors II, V and methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphism in patients with diabetic nephropathy: prevalence, clinical and prognostic implications. *Diabetes Mellitus*. 2010;13(1):6-9. <https://doi.org/10.14341/2072-0351-6009> (In Russ.)
14. Moll S, Varga EA. Homocysteine and MTHFR Mutations. *Circulation*. 2015 Jul 7;132(1):e6-9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013311
15. Singh K, Agrawal NK, Gupta SK, Singh K. A functional single nucleotide polymorphism -1562C>T in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with type 2 diabetes and diabetic foot ulcers. *Int J Low Extrem Wounds*. 2013 Sep;12(3):199-204. doi: 10.1177/1534734613493289
16. Bitsadze VO, Samburova NV, Makatsanya NA, Mishchenko AL. Folate deficiency in obstetrics and the problem of its correction. *Akusherstvo Ginekologiya i Reproduktsiya*. 2016;10(1):38-48. doi: 10.17749/2313-7347.2015.10.1.038-048 (In Russ.)
17. Rahimi M, Hasanvand A, Rahimi Z, Vaisi-Raygani A, Mozafari H, Rezaei M, Zargooshi J, Najafi F, Shakiba E. Synergistic effects of the MTHFR C677T and A1298C polymorphisms on the increased risk of micro- and macro-albuminuria and progression of diabetic nephropathy among Iranians with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*. 2010 Nov;43(16-17):1333-39. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.08.019
18. Rusanov AV, Chumachenko IaD, Dubovik EI, Garbuzova VYu, Ataman AV. Analysis of the association between C936T VEGFA gene polymorphism and diabetic foot syndrome in the Ukrainian population. *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(2):34-43. DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-2-0-4 (In Russ.)
19. Li X, Lu Y, Wei P. Association between VEGF genetic variants and diabetic foot ulcer in Chinese Han population: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2018 May;97(20):e10672. doi: 10.1097/MD.0000000000010672

Адрес для корреспонденции

672000, Российская Федерация,
г. Чита, ул. Горького, д. 39 а,
Читинская государственная медицинская
академия, кафедра госпитальной хирургии,
тел.: +7 924 38045 38,
e-mail: troicachita@mail.ru,
Троицкая Наталья Игоревна

Сведения об авторах

Троицкая Наталья Игоревна, к.м.н., ассистент кафедры госпитальной хирургии, Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Российская Федерация. <https://orcid.org/0000-0002-8973-753X>
Шаповалов Константин Геннадьевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Российская Федерация. <https://orcid.org/0000-0002-3485-5176>
Мудров Виктор Андреевич, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного и стоматологического факультетов, Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Российская Федерация. <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>

Информация о статье

Поступила 1 июня 2020 г.
Принята в печать 13 сентября 2021 г.
Доступна на сайте 1 ноября 2021 г.

Address for correspondence

672000, Russian Federation,
Chita, Gorkii Str., 39a,
Chita State Medical Academy,
Department of Hospital Surgery,
tel.: +7 924 38045 38,
e-mail: troicachita@mail.ru,
Troitskaya Natalia I.

Information about the authors

Troitskaya Natalia I., PhD, Assistant of the Department of Hospital Surgery, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0002-8973-753X>
Shapovalov Konstantin G., MD, Professor, Head of the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0002-3485-5176>
Mudrov Viktor A., PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Medical and Dental Faculties, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>

Article history

Arrived: 20 June 2020
Accepted for publication: 30 September 2021
Available online: 1 November 2021