

На правах рукописи

Авзалетдинова Диана Шамилевна

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ
САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА**

3.1.19. Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Москва – 2023

Работа выполнена на кафедре эндокринологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

Моругова Татьяна Вячеславовна - доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Валеева Фарида Вадутовна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Демидова Татьяна Юльевна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Бардымова Татьяна Прокопьевна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии Иркутской государственной медицинской академии последиplomного образования – филиала Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «__» _____ 202__ г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.045.01 при ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 и на сайте <https://www.endocrincentr.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 202__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Сахарный диабет 2 типа (СД2) - наиболее распространенное заболевание эндокринной системы, которое во всех странах представляет собой серьезную проблему для здравоохранения из-за его высокой распространенности и тенденции к увеличению, связанных с ним заболеваемости и смертности, а также огромного экономического ущерба.

Распространенность СД2 неуклонно прогрессирует во всем мире. По оценкам Международной Федерации Диабета, в 2021 г. зарегистрировано 537 млн больных сахарным диабетом, с предполагаемым ростом числа заболевших до 783 млн к 2045 г. (<https://diabetesatlas.org>).

СД2 типа – классическое многофакторное заболевание, в этиопатогенезе которого играют роль множество аллельных вариантов генов, а также факторы окружающей среды. К настоящему времени установлено, что к его развитию предрасполагают аллельные варианты порядка 1000 генов (Cirulli E.T. et al., 2010; Morris A.P. et al., 2012; Kim D.S. et al., 2021; Redondo M.J. et al., 2020).

Большинство работ по исследованию генетических маркеров предрасположенности к СД2 направлено на исследование генов, ответственных за функцию инсулинпродуцирующих бета-клеток, а также генов, продукты которых имеют отношение к патогенезу инсулинорезистентности.

Исследования генов-кандидатов, вовлеченных в другие механизмы формирования СД2, не столь многочисленны. В настоящее время представления о патогенезе СД2 и его осложнений значительно расширились, обсуждается роль хронического воспаления, регуляция которого осуществляется хемокинами (Garcia C. et al., 2010). В отношении генов, кодирующих хемокины, имеются лишь единичные разрозненные исследования их ассоциаций с СД2 (Simeoni E. et al., 2004; Shah R. et al., 2011).

За последние годы стало очевидно, что решающую роль в развитии ожирения и сопутствующих ему заболеваний играет головной мозг, в том числе нарушение работы центра голода и насыщения в гипоталамусе (Jais A. et al., 2017). Выдвинута гипотеза о том, что в патогенез метаболических заболеваний вовлечены гены, характеризующие психологические зависимости, в том числе, причастные к нейромедиаторам центральной нервной системы, включая глутамат (Jacob R. et al., 2018; Mellerup E. et al., 2018; Ndiaye F. et al., 2019; Romer A.L. et al., 2019). Работ по оценке вклада генов глутаматергической системы в формирование СД2 нет.

Накоплен массив данных о том, в патогенезе многофакторных заболеваний, в том числе СД2, определяющую роль играют не отдельные полиморфные локусы, а комбинации предрасполагающих аллелей генов-кандидатов (Шарипова Л.Ф. и др., 2018; Timasheva Y.R. et al., 2019). Однако исследования, направленные на установление взаимосвязи сочетаний большого числа аллельных вариантов генов-кандидатов с развитием СД2, малочисленны и носят фрагментарный характер.

Степень разработанности темы исследования

Значительная роль в предрасположенности к СД2 отводится гену транскрипционного фактора *TCF7L2*, который кодирует ядерный рецептор бета-катенина, канонического активатора Wnt–сигнального пути, и влияет на синтез и секрецию инсулина (Barra G.B. et al., 2012; Wang J. et al., 2013; Shokouhi S. et al., 2014). Ассоциация СД2 с полиморфными маркерами гена *TCF7L2* была установлена во многих популяциях, в том числе в Российской Федерации (у русских, татар) (Авзалетдинова Д.Ш. и др., 2013; Бондарь И.А. и др., 2013; Никитин А.Г. и др., 2014).

Ген адипонектина *ADIPOQ* считают одним из значимых факторов, влияющих на чувствительность к инсулину. Адипонектин секретируется адипоцитами, его дефицит играет ключевую роль в воспалительной реакции, связанной с инсулинорезистентностью, СД2 и метаболическим синдромом. Мета-анализ ряда зарубежных исследований продемонстрировал ассоциацию аллелей гена *ADIPOQ* (*rs16861194*, *rs266729* и *rs2241766*) с СД2 (Chu H. et al., 2013). В Российской Федерации полиморфные маркеры гена *ADIPOQ* ассоциированы с СД2 у якутов (*rs2241766*), русских и татар Башкортостана (*rs17366743*), у русских ассоциации для маркеров *rs266729*, *rs2241766*, *rs1501299* не выявлены (Ходырев Д.С. и др., 2015; Назарова А.М. и др., 2018; Осокина И.В. и др., 2018; Авзалетдинова Д.Ш. и др., 2019; Potapov V.A. et al., 2008).

Ген *PPARG*, кодирующий ядерный рецептор PPAR-gamma, был первым, чьи ассоциации с СД2 воспроизводились в европейских и азиатских популяциях (Altshuler D. et al., 2000; Gouda H.N. et al., 2010). Ген экспрессируется в жировой ткани, а нуклеотидная замена, приводящая к замене пролина на аланин в белке в 12 положении, связана с повышенной транскрипционной активностью гена и наблюдается у 15% европеоидов. Полиморфный маркер *rs1801284* гена *PPARG* ассоциирован с развитием СД2 у русских жителей Новосибирской области, а у жителей Башкортостана, в популяции якутов и русских г. Тюмени данная взаимосвязь не показана (Бондарь И.А. и др., 2013; Вахромеева К.А. и др., 2016; Осокина И.В. и др., 2018; Avzaletdinova D.S. et al., 2016).

Исследования генов-кандидатов, вовлеченных в другие звенья патогенеза СД2, не столь многочисленны.

В последние годы в патогенезе СД2 и его сосудистых осложнений уделяется внимание участникам хронического воспаления - цитокинам и хемокинами (Garcia C. et al., 2010). Исследование Коненкова В.И. и соавт. (2012) включало изучение ассоциации комбинаций полиморфных участков генов цитокинов (*IL1B*, *IL4*, *IL6*, *IL10* и *TNFA*) у больных СД2 русских женщин. Исследования ассоциаций полиморфных маркеров генов хемокинов с СД2 малочисленны. В частности, в работе Simeoni E. и соавт. (2004) показана ассоциация полиморфного маркера *rs1024611* гена хемокина *CCL2* с инсулинорезистентностью и СД2 у европеоидов, в работе Shah R. и соавт.

(2011) - ассоциация полиморфного маркера *rs3732378* гена рецептора хемокина *CX3CR1* с СД2.

Важнейшим фактором формирования СД2 является ожирение, обусловленное, в том числе, разобщением процессов потребления пищи и расхода энергии из-за воспаления и глиоза в гипоталамусе (Mountjoy K.G., 2010; Jais A. et al., 2017). Показана взаимосвязь метаболических заболеваний с генами психологических зависимостей, кодирующими нейромедиаторы центральной нервной системы (Jacob R. et al., 2018; Mellerup E. et al., 2018; Ndiaye F. et al., 2019; Romer A.L. et al., 2019). Вместе с тем, исследования ассоциаций полиморфных маркеров генов рецепторов глутамата, наиболее распространенного возбуждающего медиатора центральной нервной системы, с СД2 ранее не проводились.

Из генов, влияющих на пищевое поведение, в отношении СД2 изучен ген рецептора меланокортинстимулирующего гормона 4 (*MC4R*). Продукт гена *MC4R* влияет на формирование аппетита, массу тела и развитие инсулинорезистентности. Данные крупного мета-анализа свидетельствуют об ассоциации полиморфного локуса *rs17782313* гена *MC4R* с СД2 (Xi B. et al., 2012). В Российской Федерации ассоциация с риском развития СД2 по маркеру гена *MC4R rs571323* получена у русских г. Тюмени и у жителей Башкортостана (Суплотова Л.А. и др., 2014; Шарипова Л.Ф. и др., 2018).

Данные исследований свидетельствуют, что развитие хронических осложнений СД зависит не только от эффективности гликемического и метаболического контроля, но и обусловлено полиморфными вариантами генов (Zhang Y. et al., 2012; Hosseini S.M. et al., 2015; Low Wang C.C. et al., 2016; Huang D. et al., 2017; Wu S. et al., 2017; Yun J.S. et al., 2019).

Полученные на сегодняшний день ассоциации все еще не находят своего применения в клинической практике, поскольку при учете риска необходимо проводить расчет вклада не одного однонуклеотидного локуса, а учитывать аддитивный эффект аллелей различных генов, а также разнообразные факторы внешней среды.

Цель исследования

Оценить роль полиморфных маркеров генов глутаматергической системы и семейства хемокинов, определяющих низкоинтенсивное воспаление жировой ткани, и показателей пищевого поведения в формировании патогенеза сахарного диабета 2 типа и его клинико-метаболических особенностей.

Задачи исследования

1. Определить ассоциации сахарного диабета 2 типа с генотипами по полиморфным маркерам генов хемокинов и их рецепторов *CCL2* (*rs1024611*), *CCL5* (*rs2107538*), *CCL11* (*rs16969415*), *CCL17* (*rs223828*), *CCL20* (*rs6749704*), *CX3CR1* (*rs3732378*) и *CCR5* (*rs333*), рецептора лептина *LEPR* (*rs1137100*), рецепторов глутамата *GRIN2B* (*rs7301328* и *rs1805476*),

- GRIA1* (*rs2195450*), транскрипционного фактора 7 *TCF7L2* (*rs7903146*), рецептора липопротеинов низкой плотности *LRP5* (*rs3736228*), активируемого пролифераторами пероксисом рецептора гамма *PPARG2* (*rs1801282*), рецептора к меланокортину 4 *MC4R* (*rs17782313*), адипонектина *ADIPOQ* (*rs17366743*), липопротеинлипазы *LPL* (*rs320*).
2. Определить ассоциации сахарного диабета 2 типа с комбинациями генотипов и аллелей по полиморфным маркерам генов: транскрипционного фактора 7 *TCF7L2* (*rs7903146*), рецептора липопротеинов низкой плотности *LRP5* (*rs3736228*), активируемого пролифераторами пероксисом рецептора гамма *PPARG2* (*rs1801282*), рецептора к меланокортину 4 *MC4R* (*rs17782313*), адипонектина *ADIPOQ* (*rs17366743*), липопротеинлипазы *LPL* (*rs320*), хемокинов и их рецепторов *CCL2* (*rs1024611*), *CCL5* (*rs2107538*), *CCL11* (*rs16969415*), *CCL17* (*rs223828*), *CCL20* (*rs6749704*), *CX3CR1* (*rs3732378*) и *CCR5* (*rs333*), рецептора лептина *LEPR* (*rs1137100*), рецепторов глутамата *GRIN2B* (*rs7301328*, *rs1805476*), *GRIA1* (*rs2195450*).
 3. Установить ассоциации клинико-метаболических особенностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа с полиморфными маркерами генов хемокинов и их рецепторов *CCL2* (*rs1024611*), *CCL5* (*rs2107538*), *CCL11* (*rs16969415*), *CCL17* (*rs223828*), *CCL20* (*rs6749704*), *CX3CR1* (*rs3732378*) и *CCR5* (*rs333*), рецептора лептина *LEPR* (*rs1137100*), рецепторов глутамата *GRIN2B* (*rs7301328*, *rs1805476*), *GRIA1* (*rs2195450*).
 4. Установить показатели ограничительного, эмоциогенного, экстернального пищевого поведения, отношения к приему пищи и импульсивности у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.
 5. Разработать прогностическую модель сахарного диабета 2 типа с учетом полиморфных маркеров генов и внешних факторов.

Научная новизна исследования

Проведен анализ ассоциаций 17-ти полиморфных маркеров генов с СД2, из них впервые – по полиморфным маркерам генов хемокинов и их рецепторов, а также генов рецепторов глутамата.

Показано отсутствие ассоциаций отдельных полиморфных маркеров генов хемокинов и их рецепторов *CCL2* (*rs1024611*), *CCL5* (*rs2107538*), *CCL11* (*rs16969415*), *CCL17* (*rs223828*), *CX3CR1* (*rs3732378*), рецептора лептина *LEPR* (*rs1137100*), рецептора глутамата *GRIN2B* (*rs7301328*, *rs1805476*), рецептора липопротеинов низкой плотности *LRP5* (*rs3736228*), активируемого пролифераторами пероксисом рецептора гамма *PPARG2* (*rs1801282*), рецептора к меланокортину 4 *MC4R* (*rs17782313*), липопротеинлипазы *LPL* (*rs320*) с риском развития СД2.

При анализе ассоциаций 17-ти полиморфных маркеров с СД2 у мужчин и женщин выявлены гендерные различия генетической предрасположенности к СД2 по полиморфным маркерам генов. Маркерами повышенного риска СД2 у мужчин являются генотип *CC* полиморфного маркера *rs6749704* гена *CCL20* (OR=3,85, 95% CI 2,13-6,97, $P^{\text{FDR}}=0,0002$), генотип *D/I* полиморфного маркера

rs333 гена *CCR5* (OR=4,42, 95% CI 1,25-15,57, $P^{\text{FDR}}=0,0208$), генотипы *CT* и *TT* полиморфного маркера *rs2195450* гена *GRIA1* (OR=2,42, 95% CI 1,58-3,72, $P^{\text{FDR}}=0,0002$).

Маркерами повышенного риска СД2 у женщин являются генотипы *CT* и *TT* полиморфного маркера *rs7903146* гена *TCF7L2* (OR=1,69, 95% CI 1,29-2,22, $P^{\text{FDR}}=0,0003$), генотип *TC* полиморфного маркера *rs17366743* гена *ADIPOQ* (OR=2,55, 95% CI 1,26-5,14, $P^{\text{FDR}}=0,0168$).

Впервые изучен характер полигенных взаимодействий между 17-ю полиморфными маркерами генов, продукты экспрессии которых участвуют в различных звеньях патогенеза СД2: нарушение функции бета-клеток (*TCF7L2*, *LRP5*), инсулинорезистентность (*PPARG2*, *MC4R*, *ADIPOQ*), дислипидемия (*LPL*), низкоинтенсивное воспаление жировой ткани (*CCL2*, *CCL5*, *CCL11*, *CCL17*, *CCL20*, *CX3CR1* и *CCR5*), нарушение деятельности центра потребления пищи и энергозатрат в гипоталамусе (*GRIN2B*, *GRIA1*, *LEPR*), с целью оценки вклада их комбинации в патогенез СД2. Идентифицировано 27 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с СД2.

Наибольший риск СД2 ассоциирован с сочетанием генотипа *TCF7L2 rs7903146*T/T* и аллеля *LEPR rs1137100*G* (OR=7,19, $P_{\text{Bonf}}=5,93 \times 10^{-4}$). Значимыми маркерами пониженного риска СД2 являются сочетание аллелей *TCF7L2 rs7903146*C*, *ADIPOQ rs17366743*T* и *CCR5 rs333*I* (OR=0,15, $P_{\text{Bonf}}=4,95 \times 10^{-4}$), а также сочетание аллелей *TCF7L2 rs7903146*C*, *ADIPOQ rs17366743*T* (OR=0,18, $P_{\text{Bonf}}=9,89 \times 10^{-4}$).

Максимальный риск СД2 у мужчин связан с сочетанием генотипа *CCL20 rs6749704*C/C* и аллеля *CCL2 rs1024611*A* (OR=6,3, $P_{\text{Bonf}}=0,009$). Пониженный риск СД2 у мужчин ассоциирован с сочетаниями аллелей *CCL20 rs6749704*T* и *GRIA1 rs2195450*C* (OR=0,27, $P_{\text{Bonf}}=0,009$), а также аллелей *CCL20 rs6749704*T* и *CCL11 rs16969415*C* (OR=0,20, $P_{\text{Bonf}}=0,040$).

В группе женщин максимальный риск СД2 ассоциирован с сочетанием аллеля *LEPR rs1137100*G*, генотипа *TCF7L2 rs7903146*T/T* и аллеля *MC4R rs17782313*T* (OR=9,51, $P_{\text{Bonf}}=0,002$), а также аллеля *LEPR rs1137100*G* и генотипа *TCF7L2 rs7903146*T/T* (OR=6,57, $P_{\text{Bonf}}=0,017$). Наиболее значимым маркером пониженного риска СД2 у женщин явилось сочетание генотипа *ADIPOQ rs17366743*T/T* и аллеля *TCF7L2 rs7903146*C* (OR=0,26, $P_{\text{Bonf}}=9,27 \times 10^{-4}$).

Выявлены ассоциации полиморфных маркеров генов рецепторов хемокинов и глутамата с метаболическим статусом пациентов. Впервые установлено, что генотип *II* гена рецептора хемокина *CCR5 (rs333)* ассоциирован с повышенными показателями общего холестерина ($P^{\text{ADJ}}=0,012$), ЛПНП ($P^{\text{ADJ}}=0,0001$) и ЛПВП ($P^{\text{ADJ}}=0,033$) у пациентов с СД2, а генотипы *AC* и *CC* гена рецептора глутамата *GRIN2B (rs1805476)* ассоциированы с повышенным индексом массы тела ($P^{\text{ADJ}}=0,025$) и более высоким уровнем ЛПНП ($P^{\text{ADJ}}=0,036$) у пациентов с СД2.

Установлены особенности пищевого поведения у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) по сравнению со здоровыми лицами. Для пациентов с

СД2 более характерно эмоциогенное пищевое поведение, независимо от степени ожирения ($P=0,0001$), но менее - ограничительное ($P=0,0001$) и экстернальное ($P=0,0040$). У пациентов с СД2 ниже показатель импульсивности ($P=0,0001$). Выраженность эмоциогенного ($r=0,500$, $P<0,0001$) и экстернального ($r=0,390$, $P=0,0003$) пищевого поведения у пациентов с СД2 коррелируют с индексом массы тела. Установлена связь постпрандиальной гликемии с эмоциогенным пищевым поведением ($r=0,304$, $P=0,0052$), а также постпрандиальной ($r=0,260$, $P=0,0175$) и тощаковой гликемии ($r=0,228$, $P=0,0379$) с экстернальным пищевым поведением. Выявлена зависимость состояния липидного обмена пациентов с СД2 от пищевого поведения. Показаны изменения пищевого поведения в зависимости от возраста пациентов и длительности СД2.

Впервые проведен анализ ассоциаций ограничительного, эмоциогенного, экстернального пищевого поведения, отношения к приему пищи и импульсивности у пациентов с СД2 с полиморфными маркерами генов, продукты экспрессии которых участвуют в реализации пищевого поведения: рецептора меланокортина 4 *MC4R* (*rs17782313*), рецептора лептина *LEPR* (*rs1137100*), рецепторов глутамата *GRIN2B* (*rs7301328*), *GRIN2B* (*rs1805476*), *GRIK3* (*rs534131*), *GRIA1* (*rs2195450*), *GRIN1* (*rs6293*), хемокинов и их рецепторов *CCL2* (*rs1024611*), *CCL5* (*rs2107538*), *CCL11* (*rs16969415*), *CCL17* (*rs223828*), *CCL20* (*rs6749704*), *CX3CR1* (*rs3732378*) и *CCR5* (*rs333*).

Результаты, полученные в ходе проведенного исследования, могут быть рассмотрены в качестве научно-практической основы для оптимизации подходов к диагностике, лечению и персонализированному мониторингу СД2.

Теоретическая и практическая значимость работы

Определение предикторов сахарного диабета 2 типа и его хронических осложнений является одним из направлений персонализированной медицины.

В диссертационной работе представлены результаты, раскрывающие ранее неизвестные аспекты генетической детерминации хемокинов и их рецепторов, а также глутаматергической системы у человека, что доказывает их вовлеченность в формирование факторов этиопатогенеза сахарного диабета 2 типа, в том числе через реализацию пищевого поведения.

Установленные ассоциации аллельных вариантов полиморфных маркеров генов предрасположенности к сахарному диабету 2 типа с клинико-метаболическими особенностями течения заболевания позволяют использовать полученные данные для оценки его прогрессирования.

Полученные результаты ассоциации генетических маркеров с сахарным диабетом 2 типа расширяют мировую базу данных полиморфных маркеров генов-кандидатов заболевания. Представленное исследование подтверждает полигенность и многофакторный характер сахарного диабета 2 типа, позволяет определить новые потенциальные мишени для создания препаратов для лечения и профилактики сахарного диабета 2 типа.

Методология и методы исследования

Методологически и теоретически исследование базировалось на работах отечественных и зарубежных авторов в области эндокринологии, генетики, эпидемиологии. В ходе исследования применялись системный подход и методы статистического анализа.

При проведении исследования использовались различные диагностические методы: сбор анамнеза, анкетирование с использованием опросников пищевого поведения, общеклиническое обследование, антропометрические данные, клинико-лабораторные, инструментальные исследования пациентов с СД2 и пациентов группы контроля, молекулярно-генетическое тестирование на наличие носительства полиморфных маркеров генов, ассоциированных с СД2.

При расчетах вводились поправки на множественность тестирования, этническую принадлежность. Выполнялся мета-анализ, многофакторный анализ с учетом ко-вариат (возраст, индекс массы тела, длительность диабета, показатель гликогемоглобина, терапия), анализ полигенных взаимодействий и оценка полигенного риска.

Положения, выносимые на защиту

1. Сахарный диабет 2 типа ассоциирован с полиморфными маркерами *rs6749704* гена хемокина *CCL20*, *rs333* гена рецепторов хемокинов *CCR5*, *rs2195450* гена рецептора глутамата *GRIA1*, *rs7903146* гена транскрипционного фактора 7 *TCF7L2*, *rs17366743* гена адипонектина *ADIPOQ*. Выявлены гендерные различия генетической предрасположенности к сахарному диабету 2 типа по полиморфным маркерам генов.
2. Комбинации аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов, продукты экспрессии которых взаимосвязаны с различными звеньями патогенеза сахарного диабета 2 типа: нарушением функции бета-клеток (*TCF7L2*, *LRP5*), инсулинорезистентностью (*PPARG2*, *MC4R*, *ADIPOQ*), дислипидемией (*LPL*), низкоинтенсивным воспалением жировой ткани (*CCL2*, *CCL5*, *CCL11*, *CCL17*, *CCL20*, *CX3CR1* и *CCR5*), дизрегуляцией деятельности центра потребления пищи и энергозатрат (*GRIN2B*, *GRIA1*, *LEPR*) ассоциированы с сахарным диабетом 2 типа в зависимости от гендерной принадлежности.
3. Полиморфные маркеры *rs333* гена рецепторов хемокинов *CCR5*, *rs1805476* гена рецепторов глутамата *GRIN2B* ассоциированы с метаболическими особенностями сахарного диабета 2 типа.
4. Пищевое поведение и импульсивность у пациентов с сахарным диабетом 2 типа отличаются от лиц без диабета. Типы пищевого поведения взаимосвязаны с состоянием углеводного обмена, индексом массы тела и другими модуляторами, реализующими патогенетические механизмы развития сахарного диабета 2 типа.
5. Риск сахарного диабета 2 типа формируется при взаимодействии аллелей/генотипов множества полиморфных маркеров с внешними факторами – возрастом, индексом массы тела, типом пищевого поведения.

Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении результатов анкетирования, общеклинического обследования, антропометрических данных, клинико-лабораторных, инструментальных, молекулярно-генетических исследований пациентов с сахарным диабетом 2 типа и группы контроля и достаточного объема клинического материала. В работе использованы современные методы исследования, соответствующие поставленным задачам. Выводы аргументированы и вытекают из проведенных автором исследований. Статистическая обработка выполнена согласно современным требованиям медицинской и генетической статистики. Основные положения работы используются в учебном процессе на кафедрах эндокринологии и биологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, медицинской генетики и фундаментальной медицины ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Основные аспекты диссертационной работы были представлены и обсуждены на: II Всероссийском конгрессе эндокринологов «Инновационные технологии в эндокринологии» с участием стран СНГ (Москва, 2014); VII диабетологическом конгрессе «Сахарный диабет в XXI веке - время объединения усилий» (Москва, 2015); VI Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения-2015» (Санкт-Петербург, 2015); VII Всероссийском конгрессе эндокринологов «Достижения персонализированной медицины сегодня - результаты практического здравоохранения завтра» (Москва, 2016); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017» (Москва, 2017); II Российской мультидисциплинарной конференции с международным участием «Сахарный диабет – 2017: от мониторинга к управлению» (Новосибирск, 2017); I Всероссийской конференции с международным участием «Сахарный диабет: макро- и микрососудистые осложнения» (Москва, 2017); VII (XXV) Всероссийском диабетологическом конгрессе с международным участием «Сахарный диабет - пандемия XXI века» (Москва, 2018); III Всероссийской конференции с международным участием «Сахарный диабет, его осложнения и хирургические инфекции» (Москва, 2019); VII съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященном 100-летию кафедры генетики СПбГУ (Санкт-Петербург, 2019); VIII Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» (Москва, 2019); VII Всероссийской научной конференции с международным участием «Геномная медицина в пренатальной диагностике, генетическом паспорте и в генной терапии» (Санкт-Петербург, 2020); IX (XXVIII) Национальном диабетологическом конгрессе с международным участием «Сахарный диабет и ожирение – неинфекционные междисциплинарные пандемии XXI века» (Москва, 2022); I Международном Евроазиатском форуме врачей внутренней медицины (Уфа, 2022); Научно-образовательной онлайн Школе для специалистов Приволжского и Уральского федеральных округов 10-11 декабря 2022 г.; научно-практической онлайн

конференции с международным участием «Достижения современной эндокринологии и диабетологии» (Уфа, 2023); III Конференции по лечению и диагностике сахарного диабета «Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике» (Москва, 2023). Официальная апробация диссертации состоялась на заседании проблемной комиссии «Внутренние болезни» ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол № 47 от 04 октября 2022 г.).

Публикации

Материалы диссертационной работы представлены в 42 научных публикациях, из них 16 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных для изложения основных научных результатов диссертации (из них 11 - в журналах, внесенных в список Высшей аттестационной комиссии, 4 — в журналах Web of Science и Scopus Q1 и Q2, 1 патент на изобретение).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на русском языке в объеме 225 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы результатов и обсуждения собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка использованной литературы, приложения. Работа иллюстрирована 58 таблицами и 11 рисунками. Список использованной литературы включает 344 источника: 73 отечественных и 271 зарубежных.

Личный вклад автора в исследование

Диссертантом лично обобщены научные данные по изучаемой теме, сформулирована рабочая гипотеза, спланирован дизайн исследования. Автором самостоятельно проведен набор пациентов, их анкетирование и обследование, распределение в группы, статистическая обработка материала, анализ полученных данных, написание статей, апробация результатов исследования, написана и оформлена рукопись диссертационной работы.

Благодарности. Автор глубоко признателен Президенту ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России академику РАН Дедову И.И., заместителю директора ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» академику РАН Мельниченко Г.А., директору ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» член-корр. РАН Мокрышевой Н.Г., д.м.н. Мазуриной Н.В., д.м.н. Никоновой Т.В., д.м.н. Викуловой О.К. за рекомендации по оформлению результатов исследования; научному консультанту – зав. кафедрой эндокринологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, д.м.н., проф. Моруговой Т.В. за всестороннюю поддержку; д.б.н., проф., член-корр. РАО Хуснутдиновой Э.К., д.м.н. Викторовой Т.В. за научно-методическую помощь; к.б.н. Кочетовой О.В. за помощь в проведении экспериментов; к.м.н. Тимашевой Я.Р., к.м.н. Насибуллину Т.Р., д.б.н. Корытиной Г.Ф., к.м.н. Балхияровой Ж.Р. за помощь в биоинформатической обработке первичных данных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика групп исследуемых

Критерии включения в основную группу:

1. Наличие информированного согласия на участие в исследовании.
2. Принадлежность к этнической группе русских, татар до 3 поколения.
3. Проживание от момента рождения в Республике Башкортостан.
4. Диагноз сахарного диабета 2 типа, установленный по критериям ВОЗ (1999).
5. Наличие сахароснижающей терапии.

Критерии исключения для основной группы:

1. Клинические признаки других типов сахарного диабета.
2. Наличие родства с другими участниками исследования.
3. Беременность, лактация.

Критерии включения в контрольную группу:

1. Наличие информированного согласия на участие в исследовании.
2. Принадлежность к этнической группе русских, татар до 3 поколения.
3. Проживание от момента рождения в Республике Башкортостан.

Критерии исключения для контрольной группы:

1. Наличие клинических и лабораторных (гипергликемия, повышение HbA_{1c}) признаков сахарного диабета.
2. Наличие родства с другими участниками исследования.
3. Беременность, лактация.

Этническую принадлежность выясняли путем индивидуального опроса, учитывая данные до третьего поколения.

Дизайн исследования (одномоментное сравнительное исследование) схематично представлен на рисунке 1.

Анкетирование пациентов

Для выявления паттернов пищевого поведения, были использованы валидированные опросники: Голландский опросник пищевого поведения DEBQ (The Dutch Eating Behaviour Questionnaire) для выявления ограничительного, эмоциогенного и экстернального пищевого поведения (Van Strien T., 2018); тест отношения к приему пищи (англ. Eating Attitudes Test (EAT-26) для скрининга нервной анорексии и нервной булимии; тест уровня импульсивности В.А. Лосенкова.

Молекулярно-генетические методы

Для проведения генетических исследований у всех больных и здоровых проводили забор 5 мл венозной крови натощак в вакуумные пробирки Vacuette. Экстракцию геномной ДНК из цельной крови осуществляли методом фенольно-хлороформной экстракции.

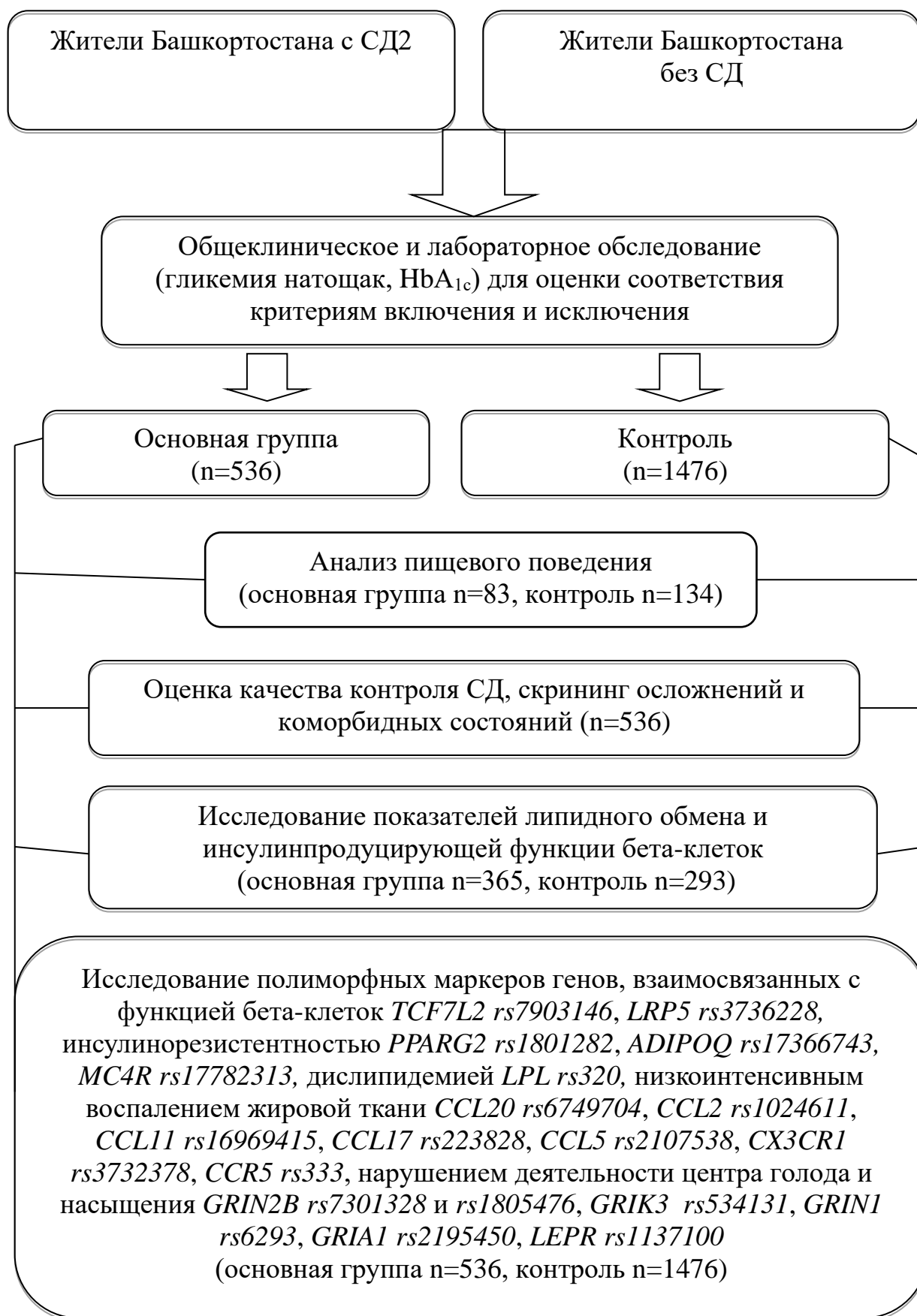


Рисунок 1 - Дизайн исследования.

Амплификацию полиморфных локусов изучаемых генов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК на амплификаторе “Терцик” производства компании «ДНК-технология» (г. Москва) и T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Для определения нуклеотидных замен проводили гидролиз амплифицированных фрагментов соответствующей рестриктазой. Фрагменты ДНК размером менее 600 пар оснований после амплификации и рестрикции разделяли при помощи электрофореза в 7% полиакриламидном геле. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Фиксацию результатов электрофореза проводили с использованием геле-документирующей системы Vilber Lourmat (Франция).

Генотипирование двух локусов было выполнено с помощью ПЦР в реальном времени по технологии Taqman.

Молекулярно-генетические исследования проводились на базе Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук.

Общеклинические методы

Определение уровня общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) проводили методом точечной фотометрии на биохимическом анализаторе «Olimpus» фирмы «Abbott» (Германия) наборами Beckman Coulter. Определение содержания С-пептида в сыворотке крови проводили методом ферментативно-усиленной хемилюминесценции на автоматическом анализаторе IMMULITE фирмы Diagnostic Products Corporation (США) с использованием реактивов фирмы Diagnostic Products Corporation.

Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали с использованием on-line калькулятора, размещенного на сайте https://www.msmanuals.com/medical-calculators/GFR_CKD_EPI-ru.htm.

Гликированный гемоглобин (HbA_{1c}) определяли с помощью теста HbA_{1c}, который был сертифицирован в соответствии с Программой стандартизации гликогемоглобина Naional Glycohemoglobin Standardization Program и нормализован до контрольных значений.

Методы статистической обработки данных

Размер выборки рассчитывали с помощью программного обеспечения Quanto v.1.2.4 исходя из ожидаемой мощности анализа 80% на основе частот минорных аллелей (MAF) исследованных SNP-кандидатов (1000Genomes), с учетом распространенности СД2 в РФ по состоянию на 01.01.2021 3%, среди мужчин 2%, среди женщин 4%, OR 1,5-2,0 и уровне значимости 0,05 (Дедов И.И. и др., 2021; Gauderman W.J. et al., 2002). Размер выборки данного исследования (n=536 для пациентов с СД2 и n=1476 для контрольной группы) был определен как достаточный для обнаружения ассоциаций между исследованными полиморфными маркерами и СД2.

Для проверки соответствия эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга использовали точный критерий Фишера.

Степень ассоциаций оценивали в значениях показателей отношения шансов (Odds Ratio, OR). OR=1 рассматривали как отсутствие ассоциации; OR более 1 как положительную ассоциацию («фактор предрасположенности»), OR менее 1 – как отрицательную ассоциацию аллеля или генотипа с заболеванием («фактор устойчивости»).

Анализ ассоциаций изученных полиморфных маркеров с СД2 проведен в этнических группах русских и татар, после чего, для усиления мощности исследования, выполнен мета-анализ ассоциаций при помощи программного обеспечения PLINK 1.9 (Purcell S. et al., 2007).

Ассоциации ДНК-полиморфизмов с предрасположенностью к СД2 и его осложнениям были оценены методом логистической регрессии путем анализа таблиц сопряженности с расчетом критерия χ^2 и OR с 95% CI с поправкой на этническую принадлежность с использованием статистического пакета SNPStats (Sole X. et al., 2006). При анализе использованы аддитивная, рецессивная, доминантная и сверхдоминантная модели наследования. Выбор наиболее предпочтительной модели произведен с учетом наименьшего значения информационного критерия Акаике (AIC) (Кутихин А.Г. и др., 2017).

Для снижения вероятности ошибок первого рода (отвержение верной нулевой гипотезы) применяли поправку на множественность сравнений по методу Бенджамини-Хохберга с использованием FDR-теста (false discovery rate) (Benjamini Y., 1995).

Ассоциации полиморфных вариантов генов с паттернами пищевого поведения и биохимическими показателями устанавливались методом линейного регрессионного анализа с использованием программы SNPStats.

Количественные показатели предварительно проверяли на нормальность распределения по критерию Колмогорова-Смирнова. Показатели с нормальным распределением описывались в формате: среднее значение \pm стандартное отклонение ($m \pm \sigma$), а в качестве теста для оценки статистической значимости различий между группами использовали Т-тест Стьюдента. Показатели с ненормальным распределением описывались в формате: медиана (Me), первый и третий квартили (Q1; Q3), а для сравнения двух групп использовался критерий Манна-Уитни. Выявленные межгрупповые различия считались значимыми при $P < 0,05$.

Корреляционный анализ проводился методом ранговой корреляции по Спирмену. Сила корреляции оценивалась следующим образом: $r \leq 0,25$ - слабая корреляция, $0,25 < r < 0,75$ – умеренная корреляция, $r \geq 0,75$ – сильная корреляция. Расчеты проводились с использованием программы STATISTICA v13.0 (StatSoft Inc., США).

При выявлении ассоциаций полиморфных маркеров с СД2 или клинико-метаболическими показателями, проводился многофакторный анализ с включением в модель в качестве независимых ко-вариат возраста участников

исследования, ИМТ, длительности диабета, показателя HbA1c, получаемой терапии.

Поиск комбинаций аллельных вариантов, ассоциированных с заболеванием, проводился с использованием алгоритма APSampler 3.6.0 (<https://code.google.com/p/apsampler>), использующего метод Монте-Карло с цепями Маркова, основанный на байесовских подходах (Favorov A.V. et al., 2005). С целью поправки на множественность сравнений для снижения вероятности ошибки первого рода использовали пермутационный тест.

Для получения прогностических моделей развития СД2 был выполнен анализ взвешенных полигенных оценок риска СД2 с использованием генетических вариантов, для которых была выявлена ассоциация с заболеванием при индивидуальном анализе в группах мужчин и женщин. Анализ полигенных оценок риска предполагает аддитивный эффект полиморфных локусов с суммированием влияния аллелей риска (Lewis C.M. et al., 2020), в связи с чем для вычисления взвешенных полигенных оценок риска в качестве весов использовались значения OR, полученные при проведении логистического регрессионного анализа исследуемых локусов в программе PLINK при аддитивной генетической модели с использованием пола и возраста в качестве ковариат.

Оценку качества бинарной классификации проводили с использованием ROC-анализа (ROC – receiver operating characteristic) (Имаева Э.Б., 2017). Для количественной интерпретации ROC применяли показатель AUC (area under ROC curve) (Имаева Э.Б., 2017). Качество теста оценивали с использованием экспертной шкалы для значений AUC (интервал AUC 0,9–1,0 – отличное качество модели, 0,8–0,9 – очень хорошее, 0,7–0,8 – хорошее, 0,6–0,7 – среднее, 0,5–0,6 – неудовлетворительное качество модели).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая характеристика пациентов с сахарным диабетом 2 типа

Проведено генотипирование 2012 участников исследования, из них 536 имели СД2, а 1476 составляли группу контроля, т.е. не имели СД2 и их толерантность к глюкозе была в пределах нормы. Все участники исследования относились к этническим группам татар и русских (Таблица 1).

Проведена сравнительная оценка метаболических особенностей пациентов с СД2 и контрольной группы. Установлено, что участники основной группы в 86,6% случаев имели избыток массы тела или ожирение. Полученные результаты согласуются с данными литературы о фенотипических особенностях больных СД2. Пациенты основной группы в 30,8% случаев имели отягощенную по СД2 наследственность (Таблица 1).

При анализе наследственной отягощенности в зависимости от степени родства выявлено, что в большем числе случаев СД2 встречается у родных сестер и матерей (18,8% и 17,5%, соответственно).

Таблица 1 - Общая характеристика групп исследуемых

| Показатели | | Основная группа | Группа контроля |
|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|
| Кол-во обследуемых | Всего | 536 | 1476 |
| | Мужчины (русские/татары) | 132 (27,2%) 50/82 | 634 (46,2%) 281/353 |
| | Женщины (русские/татары) | 404 (72,8%) 160/244 | 842 (53,8%) 468/374 |
| Возраст, Ме (25; 75), лет | | 62,0 (55,0; 69,0) | 47,0 (40,0; 55,0) |
| Дебют СД2, Ме (25; 75), лет | | 54,0 (48,0; 61,0) | - |
| Длительность СД2, Ме (25; 75), лет | | 6,0 (3,0; 11,0) | - |
| Место проживания | сельская местность | 250 (46,6%) | 250 (16,9%) |
| | город | 286 (53,4%) | 1226 (83,1%) |
| Масса тела | нормальная | 63 (13,4%) | 239 (32,1%) |
| | избыточная | 170 (36,1%) | 286 (38,4%) |
| | ожирение I степени | 162 (34,4%) | 147 (19,8%) |
| | ожирение II степени | 59 (12,5%) | 48 (6,5%) |
| | ожирение III степени | 17 (3,6%) | 24 (3,2%) |
| Отягощенная наследственность по СД2 | | 154 (30,8%) | - |

Выявлена корреляция с наличием наследственной отягощенности по СД2 и ИМТ ($r=0,133$, $P=0,0180$). В группе пациентов с отягощенной наследственностью по СД2 ИМТ был выше, чем в группе пациентов без отягощенной наследственности по СД2 (30,5 (27,3; 33,3) кг/м² и 29,0 (26,2; 32,1) кг/м² соответственно, $P=0,0182$).

Установлена корреляция с наличием наследственной отягощенности по СД2 и возрастом дебюта заболевания ($r=-0,2973$, $P<0,0001$). В группе пациентов с отягощенной наследственностью по СД2 заболевание манифестировало в более молодом возрасте, чем в группе пациентов без отягощенной наследственности по СД2 (50,0 (44,0; 56,0) лет и 57,0 (51,3; 63,0) лет, соответственно, $P<0,0001$).

Выявлена корреляция с наличием наследственной отягощенности по СД2 и уровнем С-пептида крови ($r=-0,231$, $P=0,0010$). В группе пациентов с отягощенной наследственностью по СД2 показатель С-пептида крови был меньше, чем в группе пациентов без отягощенной наследственности по СД2 (1,83 (0,90; 2,60) нг/мл и 2,41 (1,64; 3,10) нг/мл, соответственно, $P=0,0011$).

Установлена корреляция между наследственной отягощенностью по СД2 и ГБ ($r=-0,1162$, $P=0,0393$), ЦВЗ ($r=-0,1400$, $P=0,0129$).

Проведен анализ показателей углеводного обмена в зависимости от

степени ожирения. Выявлено, что в группе пациентов с ожирением II ст. и более тощаковая гликемия выше, чем у пациентов с СД2 с нормальной массой тела (7,3 ммоль/л и 7,1 ммоль/л соответственно, $P=0,0381$) и у пациентов с избытком массы тела и ожирением I ст. (7,3 ммоль/л и 6,8 ммоль/л соответственно, $P=0,0044$).

Гликозилированный гемоглобин был выше в группе пациентов с ожирением II ст. и более, по сравнению с пациентами с СД2 с нормальной массой тела (7,3% и 7,1% соответственно, $P=0,0026$) и у пациентов с избытком массы тела и ожирением I ст. (7,3% и 7,2% соответственно, $P=0,0128$).

Проведенный сравнительный межгрупповой анализ липидного спектра в зависимости от ИМТ показал, что медиана ЛПВП у пациентов с СД2 с нормальной массой тела была выше, чем у пациентов с избытком массы тела и ожирением I степ. – 1,21 и 1,10 ммоль/л соответственно, $P=0,0030$.

Показатели ЛПНП у пациентов с СД2 были также выше у пациентов с СД2 с нормальной массой тела, чем у пациентов с избытком массы тела и ожирением I степ. (3,46 и 3,04 ммоль/л соответственно, $P=0,0062$), а у пациентов с ожирением II степ. и более показатель ЛПНП был выше, чем у пациентов с избытком массы тела и ожирением I степ. (3,25 ммоль/л и 3,04 ммоль/л, $P=0,0205$).

Наиболее частым микрососудистым осложнением является диабетическая полинейропатия, зафиксированная в 41,6% случаев. Диабетическая ретинопатия установлена у 37,1% больных, диабетическая нефропатия - у 24,1%. В большинстве случаев СД2 сопутствовала ГБ (68,3%).

Для выявления клинико-метаболических особенностей течения СД2 был проведен корреляционный анализ. Установленные связи отражают этиопатогенетические особенности дебюта и прогрессирующий характер течения СД2.

Подтверждается частое сочетание микроангиопатий: диабетическая ретинопатия сочетается с диабетической нефропатией ($r=0,76$, $P<0,0001$), диабетической полинейропатией ($r=0,67$, $P<0,0001$), а нефропатия с полинейропатией ($r=0,61$, $P<0,0001$). Установлена обратная корреляция уровня С-пептида с развитием ретинопатии ($r=-0,1901$, $P=0,007$), нефропатии ($r=-0,1705$, $P=0,0158$), полинейропатии ($r=-0,1876$, $P=0,0078$).

Чем выше ИМТ, тем моложе дебют СД2 ($r=-0,2005$, $P=0,0044$), что свидетельствует о роли ожирения, как фактора риска СД2. ИМТ положительно коррелирует с частотой ГБ ($r=0,2217$, $P=0,0001$), взаимосвязи ИМТ с хроническими осложнениями и сердечно-сосудистыми заболеваниями выявлено не было.

При диабетической полинейропатии чаще встречается ЦВЗ ($r=0,3216$, $P<0,0001$), но реже ПИКС ($r=-0,1126$, $P=0,0457$), что подтверждает различия в их этиопатогенезе. Выявлена отрицательная корреляция между ретинопатией и ЦВЗ ($r=-0,2307$, $P<0,0001$), положительная – с ГБ ($r=0,1290$, $P=0,0220$).

Выявлена положительная корреляция массы тела с частотой развития ГБ, что согласуется с данными литературы. При наследственной отягощенности

функция β -клеток нарушена в большей степени, что отражается на более низком уровне С-пептида. Положительная корреляция ретинопатии с показателем HbA_{1c} ($r=0,1633$, $P=0,0153$) закономерно отражает влияние уровня гликемии на развитие и прогрессирование ретинопатии.

Найденные положительные связи частоты сочетания диабетической ретинопатии и диабетической нефропатии с диабетической полинейропатией, возможно, имеют патогенетический характер. Выявлены ранее не установленные положительные связи частоты развития полинейропатии и ЦВЗ, что может свидетельствовать о влиянии нейропатии на развитие макроангиопатий.

Атеросклероз при СД2 носит универсальный, системный характер: ИБС сочетается с ЦВЗ ($r=0,29$, $P=0,01$), ГБ ($r=0,28$, $P=0,03$), а артериальная гипертензия часто приводит к инфаркту миокарда ($r=0,1630$, $P=0,0037$).

Таким образом, анализ клинической характеристики больных СД2 позволил установить, что наследственная отягощенность в основном проявляется как случаи СД2 у родных сестер и матерей (18,8% и 17,5%, соответственно). При наличии наследственной отягощенности по СД2 заболевание манифестирует раньше, характеризуется более высоким ИМТ и сниженной функцией инсулин-продуцирующих клеток.

Проведен анализ показателей углеводного обмена в зависимости от степени ожирения. Выявлено, что в группе пациентов с ожирением II ст. и более тощаковая гликемия и HbA_{1c} выше, чем у пациентов с СД2 с нормальной массой тела и у пациентов с избытком массы тела и ожирением I ст. Пациенты с избытком массы тела и ожирением I ст. не отличались по уровню тощаковой гликемии и HbA_{1c} от пациентов с нормальной массой тела.

Анализ клинической характеристики больных СД2 позволил установить, что заболевание протекает более агрессивно при наличии наследственной отягощенности и ожирения II ст. и выше.

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных генетических маркеров с риском сахарного диабета 2 типа

Гены хемокинов и их рецепторов. У мужчин выявлены статистически значимые различия в распределении частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров *CCL2 rs1024611*, *CCR5 rs333* и *CCL20 rs6749704* между группой пациентов с СД2 и контрольной группой (Таблица 2).

У женщин выявлены статистически значимые различия в распределении частот генотипов и аллелей полиморфного маркера *CCL20 rs6749704* между группой пациентов с СД2 и контрольной группой (Таблица 3).

При проведении многофакторного анализа с включением в качестве ко-вариант возраста и ИМТ, в группе мужчин подтвердилась ($R^2=0,1363$, $P<0,001$) ассоциация с СД2 двух выявленных ранее в ходе логистического регрессионного анализа полиморфных маркеров: *CCL20 rs6749704* ($\beta=0,3225$, $P=0,0011$), *CCR5 rs333* ($\beta=-0,2753$, $P=0,0038$). В группе женщин ассоциация

полиморфного маркера *CCL20 rs6749704* ($\beta=0,03098$, $P=0,4861$) с СД2 при многофакторном анализе утратилась.

Таким образом, среди исследованных полиморфных маркеров генов хемокинов и их рецепторов независимым маркером повышенного риска СД2 для мужчин является генотип *CC* маркера *CCL20 rs6749704* ($OR=3,85$, 95% CI 2,13-6,97, $P^{FDR}=0,0002$) в рецессивной модели, и генотип *D/I* маркера *CCR5 rs333* ($OR=4,42$, 95% CI 1,25-15,57, $P^{FDR}=0,0208$).

Таблица 2 - Частоты генотипов и аллелей по полиморфным маркерам генов хемокинов и их рецепторов у мужчин с СД2 и контрольной группы

| Ген, SNP | Генотипы, аллели | СД2 n (%) | Контроль n (%) | P (P^{FDR}) | OR (95% CI) |
|------------------------|------------------|--------------|-------------------|----------------------------------|-------------------|
| <i>CCL20 rs1024611</i> | <i>GG</i> | 3 (2,73) | 45 (13,08) | 0,0007 (0,0028) | 0,16 (0,05-0,53) |
| | <i>AG</i> | 43 (39,09) | 147 (42,73) | | 0,69 (0,44-1,09) |
| | <i>AA</i> | 64 (58,18) | 152 (44,19) | | 1,00 |
| | <i>G</i> | 49 (22,27) | 237 (34,45) | 0,0010 (0,0040) | 0,55 (0,40-0,80) |
| | <i>A</i> | 171 (77,75) | 451 (65,55) | | 1,82 (1,25-2,49) |
| | N | 110 | 344 | - | - |
| <i>CCL20 rs6749704</i> | <i>CC</i> | 21 (20,0) | 33 (6,1) | 0,0001 (0,0008) | 4,39 (2,32-8,33) |
| | <i>CT</i> | 44 (41,9) | 232 (42,88) | | 1,31 (0,82-2,08) |
| | <i>TT</i> | 40 (38,1) | 276 (51,02) | | 1,00 |
| | <i>C</i> | 86 (40,95) | 298 (27,54) | 0,0002 (0,0016) | 1,85 (1,37-2,53) |
| | <i>T</i> | 124 (59,05) | 784 (72,46) | | 0,54 (0,40-0,73) |
| | N | 105 | 541 | - | - |
| <i>CCR5 rs333</i> | <i>D/D</i> | 0 | 0 | 0,0078 (0,0208) | - |
| | <i>I/D</i> | 22 (22,00) | 3 (6,00) | | 4,42 (1,25-15,27) |
| | <i>I/I</i> | 78 (78,00) | 47 (94,00) | | 1,00 |
| | <i>D</i> | 22 (11,00) | 3 (3,00) | 0,1777 (0,3554) | 2,59 (1,49-17,92) |
| | <i>I</i> | 178 (89,00) | 97 (97,00) | | 0,39 (0,06-0,67) |
| | N | 100 | 50 | - | - |

Таблица 3 - Частоты генотипов и аллелей по полиморфным маркерам генов хемокинов и их рецепторов у женщин с СД2 и контрольной группы

| Ген, SNP | Генотипы, аллели | СД2 n (%) | Контроль n (%) | P (P^{FDR}) | OR (95% CI) |
|------------------------|------------------|--------------|-------------------|----------------------------------|------------------|
| <i>CCL20 rs6749704</i> | <i>CC</i> | 57 (17,59) | 18 (6,98) | 0,0005 (0,0040) | 2,94 (1,65-5,26) |
| | <i>CT</i> | 126 (38,89) | 109 (42,25) | | 1,07 (0,76-1,52) |
| | <i>TT</i> | 141 (43,52) | 131 (50,78) | | 1,00 |
| | <i>C</i> | 240 (37,04) | 145 (28,1) | 0,0011 (0,0088) | 1,51 (1,14-1,83) |
| | <i>T</i> | 408 (62,96) | 371 (71,9) | | 0,66 (0,55-0,88) |
| | N | 324 | 258 | - | - |

Примечания к таблицам 2 и 3: n – число генотипов/аллелей; N - число лиц в выборке; P – статистическая значимость различий; P^{FDR} - статистическая значимость различий с учетом поправки на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал.

По-видимому, выявленные ассоциации реализуются через инсулинорезистентность, поскольку есть данные о том, что уровень *CCL20* в крови больных СД2 по сравнению с лицами без диабета повышен, и аллель *C* ассоциирован с повышенным уровнем *CCL20* в крови (Safa A. et al., 2016; El Sharkawi F.Z. et al., 2019).

Рецептор хемокинов 5 *CCR5* экспрессируется на поверхности клеток-участников хронического низкоинтенсивного воспаления (Т-клеток, макрофагов), его лигандами являются С-С хемокины (преимущественно *CCL3*, *CCL4*, *CCL5*), которые действуют в основном как агонисты *CCR5*, стимулируя миграцию клеток и опосредуя воспалительные реакции.

Аллель *D* полиморфного маркера *rs333* гена *CCR5* характеризуется делецией 32 пар оснований в кодирующей области, что приводит к изменениям аминокислотной последовательности второй внутриклеточной петли рецепторного белка, ухудшает экспрессию *CCR5* на поверхности клеточной мембраны и его связывание с лигандами. Следствием этого является дизрегуляция трафика лейкоцитов и метаболического воспаления (Bernas S.N. et al., 2021; Ellwanger J.H. et al., 2020).

Гены рецепторов глутамата. У мужчин выявлены статистически значимые различия в распределении частот генотипов и аллелей полиморфного маркера *GRIA1 rs2195450* между пациентами с СД2 и лицами без диабета (Таблица 4). При проведении многофакторного анализа с включением в качестве ко-вариант возраста и ИМТ, ассоциация полиморфного маркера *GRIA1 rs2195450* с СД2 в группе мужчин подтвердилась ($R^2=0,1363$, $P<0,001$; $\beta=-0,1706$, $P=0,0173$).

У женщин между группой пациентов с СД2 и контрольной группой статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров *GRIN2B rs7301328* и *rs1805476*, *GRIA1 rs2195450* не выявлено.

Таблица 4 - Частоты генотипов и аллелей по полиморфному маркеру *rs2195450* гена рецептора глутамата *GRIA1* у пациентов с СД2 и лиц контрольной группы (мужчины)

| Ген, SNP | Генотипы, аллели | СД2 n (%) | Контроль n (%) | P (P^{FDR}) | OR (95% CI) |
|----------------------------------|------------------|--------------|-------------------|--|------------------|
| <i>GRIA1</i> <i>rs2195450</i> | <i>TT</i> | 13 (12,38) | 23 (4,67) | 0,0001 (0,0003) | 3,86 (1,84-8,13) |
| | <i>CT</i> | 43 (40,95) | 135 (27,38) | | 2,18 (1,38-3,43) |
| | <i>CC</i> | 49 (46,67) | 335 (67,95) | | 1,00 |
| | <i>T</i> | 69 (32,86) | 181 (18,36) | $2,2 \times 10^{-5}$ $(6,6 \times 10^{-5})$ | 2,03 (1,45-2,71) |
| | <i>C</i> | 141 (67,14) | 805 (81,64) | | 0,49 (0,37-0,69) |
| | N | 105 | 493 | - | - |

Примечания: n – число генотипов/аллелей; N - число лиц в выборке; P – вероятность нулевой гипотезы; P^{FDR} - статистическая значимость различий с учетом поправки на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал.

По полиморфному маркеру *GRIA1 rs2195450* предрасполагающими генотипами для мужчин являются *CT* и *TT* в доминантной модели ($OR=2,42$, 95% CI 1,58-3,72, $P^{FDR}=0,0002$), *TT* в рецессивной модели ($OR=2,89$, 95% CI 1,141-5,91, $P^{FDR}=0,0070$). Значимой явилась также ассоциация в аддитивной модели ($OR=2,04$, 95% CI 1,48-2,81, $P^{FDR}=0,0002$) (Таблица 5).

Таблица 5 - Анализ ассоциаций полиморфного маркера *GRIA1 rs2195450* с СД2 у мужчин

| Генотип/ Модель | СД2 (N=105), n (%) | Контроль (N=493), n (%) | OR (95% CI) | AIC | P (P ^{FDR}) |
|--------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------|-------|--------------------------|
| Доминантная | | | | | |
| CC | 49 (46,7) | 335 (68,0) | 1,00 | 543,2 | <0,0001 (0,0002) |
| CT и TT | 56 (53,3) | 158 (32,0) | 2,42 (1,58-3,72) | | |
| Рецессивная | | | | | |
| CC и CT | 92 (87,6) | 470 (95,3) | 1,00 | 552,1 | 0,0059 (0,0070) |
| TT | 13 (12,38) | 23 (4,67) | 2,89 (1,41-5,91) | | |
| Аддитивная | --- | --- | 2,04 (1,48-2,81) | 541,3 | <0,0001 (0,0002) |

Примечания: n – число лиц с данным генотипом; N – число лиц в выборке; P – вероятность нулевой гипотезы; P^{FDR} – статистическая значимость различий с учетом поправки на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов для минорного аллеля; 95% CI – 95% доверительный интервал; AIC – информационный критерий Акаике.

В данном исследовании впервые выявлена ассоциация полиморфного маркера *rs2195450* гена рецептора глутамата *GRIA1* с СД2. Глутаматная система тесно связана с ключевыми патогенетическими механизмами СД2 — ожирением и нарушением секреции инсулина. В экспериментах на животных активация рецепторов глутамата в гипоталамусе приводит к перееданию (Stricker-Krongrad A. et al., 1992; Stanley B.G. et al., 1993; Ploj K. et al., 2010). Рецепторы глутамата также экспрессируются в поджелудочной железе, и глутамат модулирует функцию ее эндокринных клеток (Marquard J. et al., 2015; Welters A. et al., 2017).

Гены, взаимосвязанные с функцией бета-клеток и инсулинорезистентностью. У мужчин не было выявлено статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров *TCF7L2 (rs7903146)*, *LRP5 (rs3736228)*, *PPARG2 (rs1801282)*, *MC4R (rs17782313)*, *ADIPOQ (rs17366743)*, *LPL (rs320)* между группой пациентов с СД2 и контрольной группой.

У женщин выявлены различия в распределении частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров *TCF7L2 rs7903146* и *ADIPOQ rs17366743* между больными СД2 и здоровыми (Таблица 6). При проведении многофакторного анализа с включением в качестве ко-вариант возраста и ИМТ ($R^2=0,2748$, $P<0,001$), ассоциация полиморфных маркеров *TCF7L2 rs7903146* и

ADIPOQ rs17366743 с СД2 в группе женщин подтвердилась ($\beta=0,2228$, $P=0,0004$; $\beta=-0,1519$, $P=0,0277$, соответственно).

Таблица 6 - Частоты генотипов и аллелей по полиморфным локусам генов у пациентов с СД2 и лиц контрольной группы (женщины)

| Ген, SNP | Генотипы, аллели | СД2 n (%) | Контроль n (%) | P (P^{FDR}) | OR (95% CI) |
|-----------------------------|------------------|--------------|-------------------|--|------------------|
| <i>TCF7L2</i> rs7903146 | <i>TT</i> | 69 (19,60) | 74 (13,17) | 0,0003 | 1,97 (1,34-2,80) |
| | <i>CT</i> | 141 (40,06) | 188 (33,45) | 0,0018 | 1,58 (1,18-2,13) |
| | <i>CC</i> | 142 (40,34) | 300 (53,38) | | 1,00 |
| | <i>T</i> | 279 (39,63) | 336 (29,89) | $2,5 \times 10^{-4}$ | 1,42 (1,18-1,69) |
| | <i>C</i> | 425 (60,37) | 788 (70,11) | (0,0015) | 0,71 (0,59-0,85) |
| | N | 352 | 562 | - | - |
| <i>ADIPOQ</i> rs17366743 | <i>CC</i> | 0 (0) | 0 (0) | 0,0056 | - |
| | <i>TC</i> | 37 (14,51) | 11 (6,25) | 0,0168 | 2,55 (1,26-5,14) |
| | <i>TT</i> | 218 (85,49) | 165 (93,75) | | 1,00 |
| | <i>C</i> | 37 (7,25) | 11 (3,13) | 0,0100 | 2,58 (1,50-5,95) |
| | <i>T</i> | 473 (92,75) | 347 (96,87) | (0,0300) | 0,39 (0,17-0,67) |
| | N | 255 | 179 | - | - |

Примечания: n – число лиц с данным генотипом/аллелем; N - число лиц в выборке; P – статистическая значимость различий; P^{FDR} - статистическая значимость различий с учетом поправки на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал.

По полиморфному маркеру *TCF7L2* rs7903146 (Таблица 7) генотипами риска у женщин явились *CT* и *TT* в доминантной модели (OR=1,69, 95% CI 1,29-2,22, $P^{FDR}=0,0003$), *TT* в рецессивной модели (OR=1,61, 95% CI 1,12-2,30, $P^{FDR}=0,0124$). Значимой явилась также ассоциация в аддитивной модели (OR=1,44, 95% CI 1,20-1,73, $P^{FDR}=0,0003$).

По полиморфному маркеру *ADIPOQ* rs17366743 генотипом риска является *TC* (OR=2,55, 95% CI 1,26-5,14, $P^{FDR}=0,0168$).

В таблице 8 представлены данные ассоциаций полиморфных маркеров с СД2, которые были подтверждены в ходе многофакторного анализа.

Таблица 7 - Анализ ассоциаций полиморфного маркера *TCF7L2* rs7903146 с СД2 (женщины)

| Тест/ модель | СД2 (N=352), n (%) | Контроль (N=562), n (%) | OR (95% CI) | AIC | P (P ^{FDR}) |
|-----------------|--------------------------|-------------------------------|------------------|--------|----------------------------------|
| Доминантная | | | | | |
| СС | 142 (40,3) | 300 (53,4) | 1,00 | 1207,6 | 0,0001 (0,0003) |
| СТ и ТТ | 210 (59,7) | 262 (46,6) | 1,69 (1,29-2,22) | | |
| Рецессивная | | | | | |
| СС и СТ | 283 (80,4) | 488 (86,8) | 1,00 | 1215,7 | 0,0099 (0,0124) |
| ТТ | 69 (19,6) | 74 (13,2) | 1,61 (1,12-2,3) | | |

Продолжение таблицы 7

| | | | | | |
|------------|---|---|------------------|--------|----------------------------------|
| Аддитивная | - | - | 1,44 (1,20-1,73) | 1207,1 | 0,0001 (0,0003) |
|------------|---|---|------------------|--------|----------------------------------|

Примечания: *n* – число лиц с данным генотипом; *N* – число лиц в выборке; *P* – статистическая значимость различий; *P^{FDR}* – статистическая значимость различий с учетом поправки на множественность сравнений; *OR* – показатель соотношения шансов; 95% *CI* – 95% доверительный интервал; *AIC* – информационный критерий Акаике.

Таблица 8 - Генетические маркеры повышенного риска СД2

| Ген (полиморфный маркер) | Генотипы | OR (95% CI) | Пол |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------------|---------|
| <i>CCL20</i> (<i>rs6749704</i>) | <i>TT</i> и <i>TC</i> | - | Мужчины |
| | <i>CC</i> | 3,85 (2,13-6,97) | |
| <i>CCR5</i> (<i>rs333</i>) | <i>D/I</i> | 4,42 (1,25-15,57) | |
| <i>GRIA1</i> (<i>rs2195450</i>) | <i>CT</i> и <i>TT</i> | 2,42 (1,58-3,72) | |
| | <i>CC</i> | - | Женщины |
| <i>TCF7L2</i> (<i>rs7903146</i>) | <i>CT</i> и <i>TT</i> | 1,69 (1,29-2,22) | |
| | <i>CC</i> | - | |
| <i>ADIPOQ</i> (<i>rs17366743</i>) | <i>TC</i> | 2,55 (1,26-5,14) | |

Анализ ассоциаций полигенных комбинаций с риском сахарного диабета 2 типа

С использованием алгоритма APSampler были проанализированы полигенные взаимодействия 17-ти полиморфных маркеров, в результате чего идентифицировано 27 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с СД2, из них 15 ассоциированы с повышенным риском СД2, а 12 являются протективными, наиболее значимые из которых представлены в таблице 9. Наибольший риск СД2 ассоциирован с сочетанием *LEPR rs1137100*G* + *TCF7L2 rs7903146*T/T* (OR=7,19), максимальная протекция – с сочетанием *CCR5 rs333*I* + *ADIPOQ rs17366743*T* + *TCF7L2 rs7903146*C* (OR=0,15).

Таблица 9 - Сочетания генотипов и аллелей исследуемых полиморфных маркеров, наиболее значимо ассоциированные с СД2 в общей группе

| Сочетание | OR | 95% CI _{OR} | P _{Bonf} |
|---|------|----------------------|-----------------------------|
| <i>LEPR rs1137100*G</i> + <i>TCF7L2 rs7903146*T/T</i> | 7,19 | 3,15-16,37 | 5,93×10⁻⁴ |
| <i>LEPR rs1137100*A</i> + <i>PPARG2 rs1801282*C</i> + <i>TCF7L2 rs7903146*T/T</i> | 5,71 | 2,96-11,02 | 1,02×10⁻⁴ |
| <i>ADIPOQ rs17366743*T</i> + <i>TCF7L2 rs7903146*C</i> | 0,18 | 0,09-0,37 | 9,89×10⁻⁴ |
| <i>CCR5 rs333*I</i> + <i>ADIPOQ rs17366743*T</i> + <i>TCF7L2 rs7903146*C</i> | 0,15 | 0,07-0,34 | 4,95×10⁻⁴ |

Примечание: *P_{Bonf}* – статистическая значимость различий с учетом поправки Бонферони на множественность сравнений; *OR* – показатель соотношения шансов; 95% *CI_{OR}* – 95% доверительный интервал.

У мужчин выявлено 8 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с СД2 (6 сочетаний повышенного риска, 2 – пониженного), в группе женщин - 7 сочетаний (из них 2 – предрасполагающих к СД2 и 5 – протективных), данные представлены в таблицах 10, 11.

Таблица 10 - Сочетания генотипов и аллелей исследуемых полиморфных маркеров, ассоциированные с СД2 у мужчин

| Сочетание | OR | 95%CI _{OR} | P _{Bonf} |
|---|------|---------------------|-----------------------------|
| <i>CCL20 rs6749704*C/C + CCL2 rs1024611*A</i> | 6,30 | 3,04-13,04 | 0,009 |
| <i>CCL20 rs6749704*C + GRIN2B rs1805476*C + CCL2 rs1024611*A + CCL5 rs2107538*C</i> | 4,64 | 2,76-7,81 | 9,08×10⁻⁵ |
| <i>CCL20 rs6749704*C + GRIN2B rs1805476*C + CCL2 rs1024611*A</i> | 4,00 | 2,46-6,51 | 3,16×10⁻⁴ |
| <i>CCL20 rs6749704*C + GRIN2B rs7301328*G + CCL2 rs1024611*A</i> | 3,66 | 2,30-5,84 | 4,76×10⁻⁴ |
| <i>CCL20 rs6749704*C + GRIA1 rs2195450*T + GRIN2B rs7301328*G</i> | 3,49 | 2,14-5,67 | 0,016 |
| <i>CCL20 rs6749704*C + GRIA1 rs2195450*T</i> | 3,18 | 2,00-5,06 | 0,033 |
| <i>CCL20 rs6749704*T + GRIA1 rs2195450*C</i> | 0,27 | 0,16-0,44 | 0,009 |
| <i>CCL20 rs6749704*T + CCL11 rs16969415*C</i> | 0,20 | 0,11-0,39 | 0,040 |

Примечание: P_{Bonf} - статистическая значимость различий с учетом поправки Бонферони на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов; 95% CI_{OR} – 95% доверительный интервал.

Таблица 11 - Сочетания генотипов и аллелей исследуемых полиморфных маркеров, наиболее значимо ассоциированные с СД2 у женщин

| Сочетание | OR | 95%CI _{OR} | P _{Bonf} |
|---|------|---------------------|-----------------------------|
| <i>LEPR rs1137100*G + TCF7L2 rs7903146*T/T + MC4R rs17782313*T</i> | 9,51 | 3,27-27,67 | 0,002 |
| <i>LEPR rs1137100*G + TCF7L2 rs7903146*T/T</i> | 6,57 | 2,66-16,22 | 0,017 |
| <i>LEPR rs1137100*A + CCL20 rs6749704*T + CX3CR1 rs3732378*G + TCF7L2 rs7903146*C</i> | 0,33 | 0,20-0,52 | 0,009 |
| <i>LEPR rs1137100*A + CCL20 rs6749704*T + TCF7L2 rs7903146*C</i> | 0,32 | 0,20-0,52 | 0,009 |
| <i>LEPR rs1137100*A + CCL20 rs6749704*T + TCF7L2 rs7903146*C + MC4R rs17782313*T</i> | 0,31 | 0,19-0,50 | 0,004 |
| <i>LEPR rs1137100*A + CCL20 rs6749704*T + TCF7L2 rs7903146*C + CCL11 rs16969415*C</i> | 0,31 | 0,19-0,51 | 0,006 |
| <i>ADIPOQ rs17366743*T/T + TCF7L2 rs7903146*C</i> | 0,26 | 0,15-0,45 | 9,27×10⁻⁴ |

Примечание: P_{Bonf} - статистическая значимость различий с учетом поправки Бонферони на множественность сравнений; OR – показатель соотношения шансов; 95% CI_{OR} – 95% доверительный интервал.

Все сочетания в группе мужчин содержат аллели или генотипы по маркеру *CCL20* (*rs6749704*) – предрасполагающие аллель *C* или генотип *CC*, проективные – аллель *T*. В большинстве предрасполагающих сочетаний содержится аллель *A* по маркеру *CCL2* (*rs1024611*). Большая часть сочетаний (6 из 8) у мужчин также содержат в своем составе аллели по маркерам генов рецепторов глутамата.

У женщин все сочетания содержат аллели или генотипы по локусу *TCF7L2* (*rs7903146*) – рискованные комбинации включают генотип *TT*, защитные – аллель *C*. Практически все сочетания, кроме одного, содержат аллели маркера *LEPR* (*rs1137100*), предрасполагающие – аллель *G*, а протективные – аллель *A*. Почти во все сочетания пониженного риска входит аллель *T* маркера *CCL20* (*rs6749704*). В два сочетания входит аллель *T* по локусу *MC4R* (*rs17782313*), который не продемонстрировал значимой ассоциации с СД2 при отдельном анализе. Наиболее сильным маркером пониженного риска СД2 у женщин является комбинация аллеля *C* локуса *TCF7L2* (*rs7903146*) и генотипа *TT* локуса *ADIPOQ* (*rs17366743*).

Выявленные закономерности позволили предложить гипотетическую схему патогенеза СД2 в зависимости от гендерной принадлежности (Рисунки 2,3).

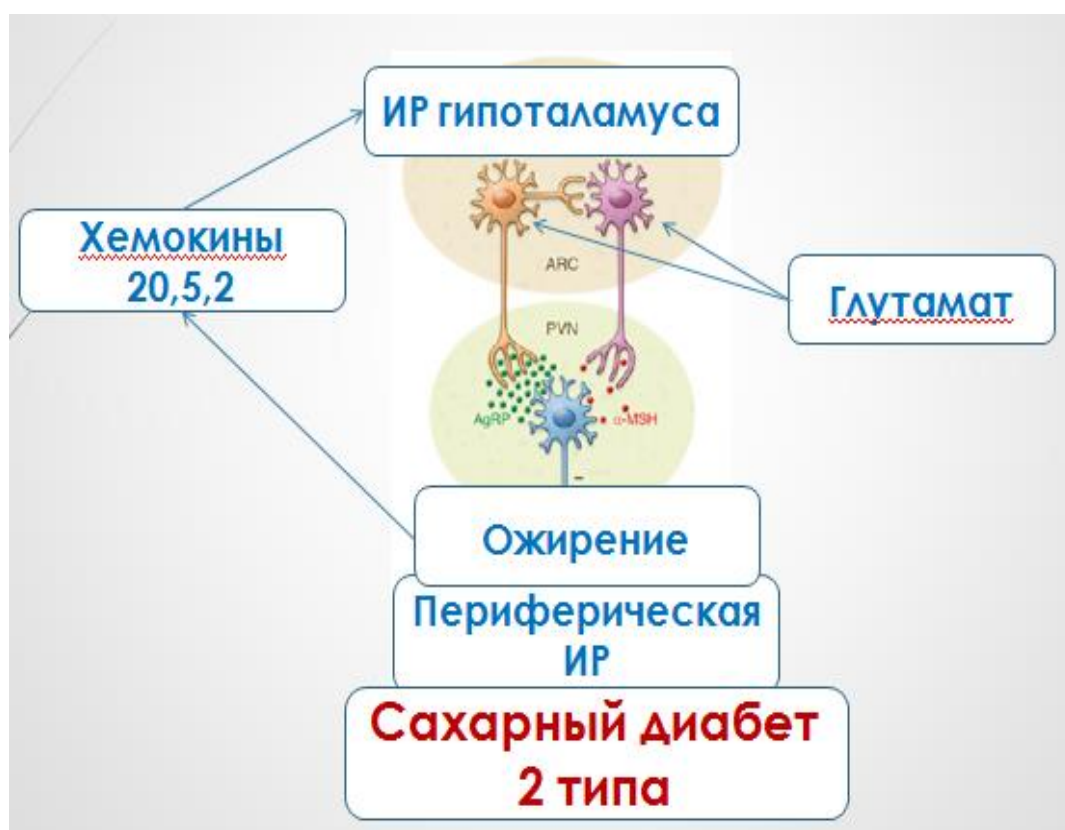


Рисунок 2 - Гипотетическая схема патогенеза СД2 у мужчин.

Примечание: ARC – аркуатное ядро гипоталамуса; PVN – паравентрикулярное ядро гипоталамуса; AgRP – агути-связанный протеин; α-MSH – меланоцит-стимулирующий гормон α.

В детерминацию СД2 у мужчин в большей степени вносит вклад периферическая и центральная инсулинорезистентность (нечувствительность гипоталамуса к анорексигенному сигналу инсулина), развивающаяся вследствие хронического низкоинтенсивного воспаления жировой ткани, а также нарушение глутаматной передачи в центре голода и насыщения головного мозга, что усугубляет имеющееся ожирение и замыкает порочный круг метаболических нарушений.

Формирование СД2 у женщин в большей степени взаимосвязано с нарушением функции инсулинпродуцирующих бета-клеток, манифестирующим на фоне периферической и центральной инсулинорезистентности, обусловленной воспалением жировой ткани, и неадекватной передачей сигнала лептин-меланокортин в центре голода и насыщения гипоталамуса, которая приводит к перееданию и прогрессированию избытка массы тела.

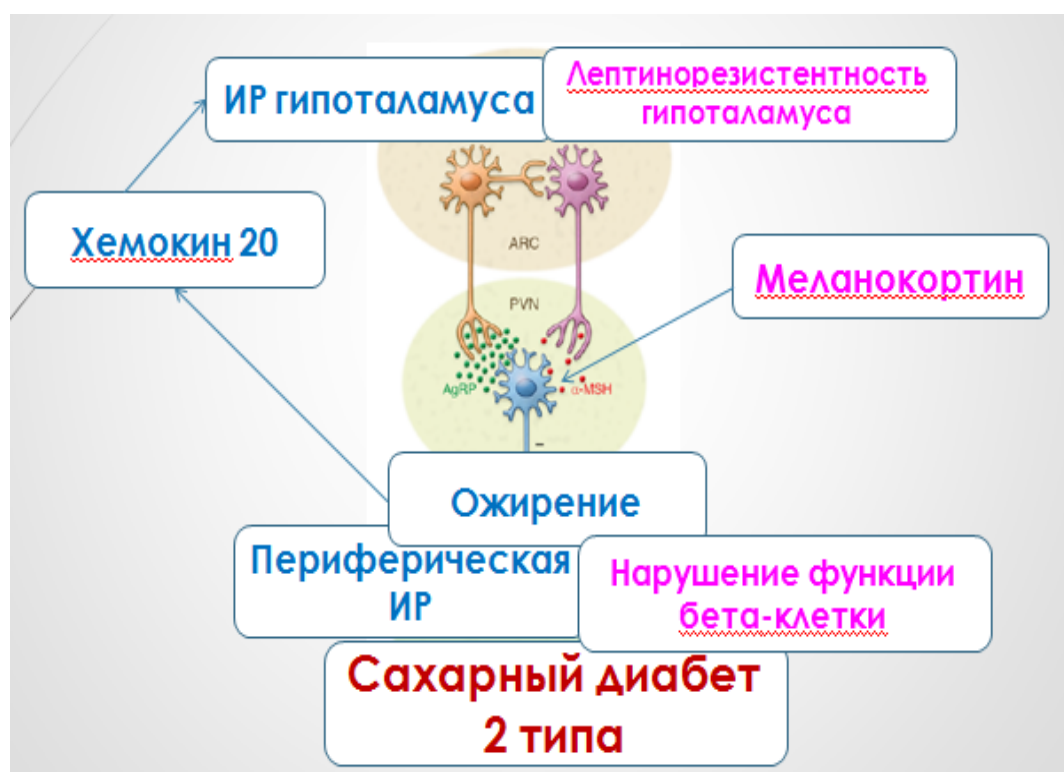


Рисунок 3 - Гипотетическая схема патогенеза СД2 у женщин.

Примечание: ARC – аркуатное ядро гипоталамуса; PVN – паравентрикулярное ядро гипоталамуса; AgRP – агути-связанный протеин; α-MSH – меланоцит-стимулирующий гормон α.

Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов с клиническими проявлениями сахарного диабета 2 типа

Полиморфный маркер *CCR5* (*rs333*) ассоциирован с показателями общего холестерина ($R^2=0,1181$, $P<0,001$; $\beta=0,0187$, $P^{ADJ}=0,0116$), ЛПНП ($R^2=0,1816$, $P<0,001$; $\beta=-0,9191$, $P^{ADJ}=0,0001$) и ЛПВП ($R^2=0,02311$, $P=0,033$; $\beta=-0,1818$,

$P^{ADJ}=0,0334$), что подтверждается в многофакторном анализе с включением в модель гиполипидемической терапии (Рисунок 4).

Данные об ассоциации маркера *CCR5* (*rs333*) с показателями липидов крови получены впервые. В литературе имеются противоречивые данные о взаимосвязи полиморфного маркера *CCR5* (*rs333*) с атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями (Sudomoina M.A. et al., 2010; Singh N., et al., 2012; Dinh K.M., et al., 2015). Мета-анализ исследований с участием только азиатских популяций продемонстрировала ассоциацию аллеля *CCR5*D* с повышенным риском развития атеросклероза (Zhang Z. et al., 2015).

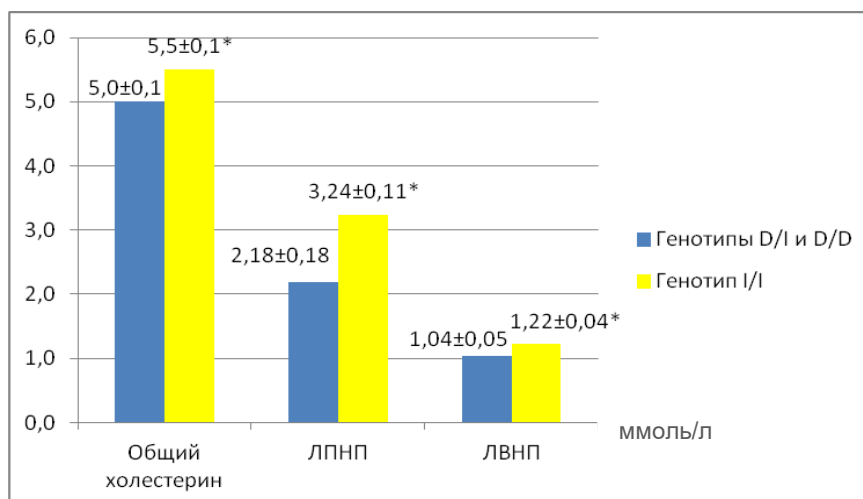


Рисунок 4 - Ассоциации полиморфного маркера *CCR5* (*rs333*) с показателями липидного обмена.

Полиморфный маркер *GRIN2B* (*rs1805476*) ассоциирован с ИМТ у пациентов с СД2, что доказано многофакторным анализом с включением в модель возраста пациентов ($R^2=0,08617$, $P<0,001$; $\beta=-1,1421$, $P^{ADJ}=0,025$), а также ассоциирован с ЛПНП ($R^2=0,1218$, $P<0,001$; $\beta=0,2796$, $P^{ADJ}=0,0363$), что также подтверждается в многофакторном анализе с включением в модель гиполипидемической терапии (Рисунки 5, 6).

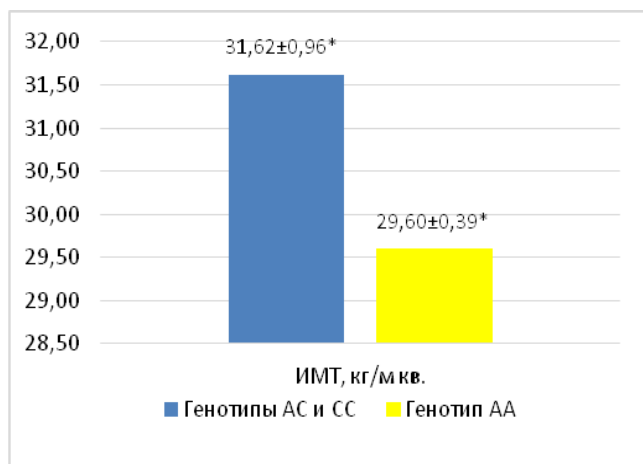


Рисунок 5 - Ассоциация полиморфного маркера *GRIN2B* (*rs1805476*) с ИМТ.

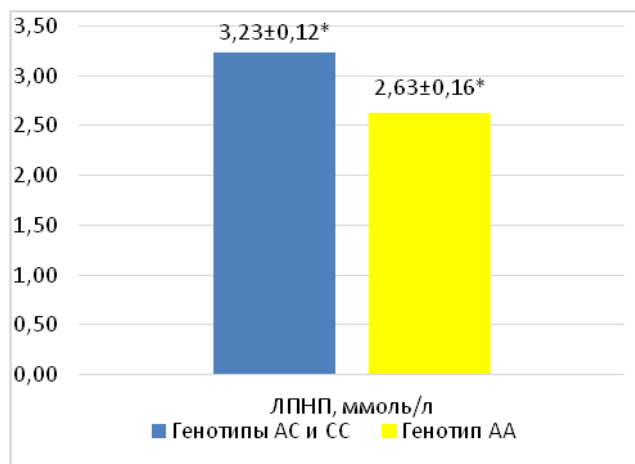


Рисунок 6 - Ассоциация полиморфного маркера *GRIN2B* (*rs1805476*) с ЛПНП.

Пищевое поведение пациентов с сахарным диабетом 2 типа

При сравнительном анализе показателей пищевого поведения у участников группы контроля с пациентами с СД2 отмечается, что средние значения показателей пищевого поведения отличаются в группах контроля и пациентов с СД2 по шкалам «Ограничительное пищевое поведение» ($P<0,0002$), «Эмоциогенное пищевое поведение» ($P<0,000$), «Экстернальное пищевое поведение» ($P<0,004$) (Таблица 12).

По опроснику «Импульсивность» также имеются достоверные различия ($P<0,0001$) между группой контроля и пациентов с СД2. Несмотря на то, что показатель импульсивности выше в группе контроля (61,0 против 47,0), обе группы участников исследования имеют средний уровень импульсивности (Таблица 12).

Индекс массы тела достоверно положительно коррелировал с показателями эмоциогенного пищевого поведения как в общей выборке ($r=0,4198$, $P<0,0001$), так и по отдельности в группе лиц без диабета ($r=0,1736$, $P=0,0457$) и в группе пациентов с СД2. При этом коэффициент корреляции был максимальным в группе СД2 ($r=0,4995$, $P<0,0001$).

Также в группе СД2 выявлена корреляция ИМТ с показателем экстернального пищевого поведения ($r=0,39$, $P=0,0003$).

Таблица 12 - Сравнительный анализ показателей пищевого поведения

| Показатели (в баллах) | Группа контроля $m \pm \sigma$ (min-max), N=134 | Пациенты с СД2 $m \pm \sigma$ (min-max), N=83 | P |
|--------------------------|--|--|---------------|
| Ограничительное | $3,3 \pm 0,9$ (1,2-5,8) | $2,8 \pm 0,7$ (1,0-5,6) | 0,0001 |
| Эмоциональное | $3,1 \pm 0,9$ (1,0-6,0) | $4,9 \pm 1,0$ (1,8-6,5) | 0,0001 |
| Экстернальное | $3,7 \pm 0,8$ (1,8-5,8) | $3,3 \pm 0,7$ (2,2-5,8) | 0,0040 |
| Импульсивность | $61,0 \pm 11,6$ (33,0-80,0) | $47,0 \pm 16,4$ (16,0-79,0) | 0,0001 |

Различия показателей пищевого поведения между лицами с СД2 и контролем в подгруппах с различным ИМТ представлены в таблице 13. Наиболее выражены отличия по шкале эмоциогенного поведения – у пациентов с СД2 они достоверно выше, чем у лиц без диабета, при избытке массы тела и всех степенях ожирения.

Показатели ограничительного поведения у пациентов с СД2 меньше, чем у здоровых, в подгруппах с ожирением 1 степени и 3 степени и выше. Медиана балла по шкале экстернального пищевого поведения достоверно ниже при СД2, чем в контроле, у лиц с нормальной массой тела.

Пациенты с СД2 менее импульсивны, чем здоровые лица, эти различия имеют место при избытке массы тела и ожирении 1 степени.

Таблица 13 - Показатели пищевого поведения в зависимости от индекса массы тела в группе пациентов с СД2 и в контрольной группе

| Показатели пищевого поведения (баллы), Me (25; 75) | | ИМТ<25 кг/м ² , n=35 | ИМТ 25-29,9 кг/м ² , n=79 | ИМТ 30-34,9 кг/м ² , n=66 | ИМТ 35-39,9 кг/м ² , n=27 | ИМТ≥40 кг/м ² , n=10 | Р |
|---|-------------------|---------------------------------------|---|---|---|---------------------------------------|--|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Ограничитель- ное | СД2 N=83 | 2,4 (2,3; 2,9) | 3,1 (2,4; 3,6) | 2,8 (2,8; 3,0) | 2,8 (2,8; 3,6) | 3,1 (2,0; 3,1) | P ₁ 0,145 P ₂ 0,063 P₃ 0,007 |
| | Контроль N=134 | 3,1 (2,2; 4,2) | 3,6 (2,7; 4,2) | 3,3 (2,7; 4,1) | 2,8 (2,5; 3,3) | 4,4 (4,1; 4,7) | P ₄ 0,432 P₅ 0,014 |
| Эмоциогенное | СД2 N=83 | 2,7 (2,1; 4,3) | 4,2 (3,5; 4,9) | 4,9 (4,2; 4,9) | 4,9 (4,2; 5,2) | 5,7 (5,6; 6,1) | P ₁ 0,922 P₂ 0,003 P₃ 0,001 |
| | Контроль N=134 | 2,8 (2,5; 3,6) | 3,1 (2,8; 3,6) | 3,5 (2,8; 4,4) | 3,3 (2,8; 4,3) | 3,4 (2,9; 3,5) | P₄ 0,012 P₅ 0,011 |
| Экстернальное | СД2 N=83 | 3,0 (2,5; 3,1) | 3,2 (3,0; 4,2) | 3,3 (3,1; 3,6) | 3,4 (3,3; 4,0) | 4,6 (3,8; 4,8) | P₁ 0,002 P ₂ 0,417 P ₃ 0,151 |
| | Контроль N=134 | 4,0 (3,6; 4,7) | 3,7 (3,2; 4,4) | 3,6 (2,8; 4,2) | 3,8 (3,6; 3,9) | 4,1 (3,0; 5,2) | P ₄ 0,485 P ₅ 0,522 |
| Импульсивность | СД2 N=83 | 45,0 (34,5; 71,0) | 46,0 (36,8; 66,0) | 46,5 (35,0; 68,0) | 50,5 (39,0; 62,0) | 38,0 (31,0; 71,0) | P ₁ 0,087 P₂ 0,045 P₃ 0,035 |
| | Контроль N=134 | 63,5 (58,0; 72,0) | 59,5 (53,0; 69,0) | 59,0 (51,8; 71,8) | 59,0 (52,5; 66,8) | 61,0 (54,0; 70,0) | P ₄ 0,227 P ₅ 0,201 |

В группе лиц без диабета медиана показателя по шкале ограничительного пищевого поведения была выше у мужчин, чем у женщин (3,9 (2,8; 4,4) и 3,2 (2,6; 4,1) соответственно, P=0,0354). У пациентов с СД2 не было отличий показателей пищевого поведения в зависимости от пола.

Выявлена корреляция постпрандиальной гликемии с показателем эмоциогенного поведения (r=0,304, P=0,0052). В меньшей степени выражены положительные корреляции показателей постпрандиальной (r=0,260, P=0,0175) и тощаковой гликемии (r=0,228, P=0,0379) с баллами по шкале экстернального пищевого поведения.

В группе СД2 выявлены корреляции уровней ЛПНП, общего холестерина и индекса атерогенности с показателями по шкале ЕАТ-26 (r=0,230, P=0,0364; r=0,308, P=0,0046; r=0,328, P=0,0025, соответственно), общего холестерина и импульсивности (r=0,252, P=0,0217).

В группе пациентов с СД2 показатель экстернального поведения показал отрицательную корреляцию с возрастом ($r=-0,228$, $P=0,0379$).

Три показателя пищевого поведения коррелировали с длительностью диабета. Показатели эмоциогенного ($r=-0,329$, $P=0,0024$) и экстернального поведения ($r=-0,239$, $P=0,0297$) уменьшались по мере прогрессирования заболевания, а балл по шкале ЕАТ-26 возрастал ($r=0,282$, $P=0,0098$).

Медианы показателей по шкалам эмоциогенного и экстернального поведения были достоверно ниже в подгруппе пациентов с длительностью диабета более 10 лет по сравнению с подгруппой пациентов, у которых диагноз СД2 установлен менее 10 лет назад (Таблица 14).

Таблица 14 - Показатели пищевого поведения в группах пациентов с СД2 с различной длительностью заболевания

| Показатели пищевого поведения (баллы), Ме (25; 75) | Более 10 лет N=16 | Менее 10 лет N=67 | P |
|--|----------------------|----------------------|---------------|
| Ограничительное | 3,4 (2,7; 3,6) | 2,8 (2,5; 3,1) | 0,1420 |
| Эмоциогенное | 3,9 (2,8; 4,6) | 4,9 (4,2; 5,2) | 0,0090 |
| Экстернальное | 3,0 (3,0; 3,0) | 3,3 (3,2; 3,8) | 0,0058 |
| Отношение к приему пищи | 3,0 (3,0; 3,5) | 3,0 (2,0; 3,0) | 0,0163 |
| Импульсивность | 46,0 (35,8; 64,8) | 58,0 (43,0; 72,0) | 0,1457 |

Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов с пищевым поведением пациентов с сахарным диабетом 2 типа

Ассоциация полиморфного маркера *rs1137100* гена *LEPR* с ограничительным пищевым поведением у пациентов с СД2 была наиболее выраженной в рецессивной модели. Средний балл по шкале ограничительного поведения у пациентов с генотипами AA и GA был достоверно выше, чем у пациентов с генотипом GG ($2,94 \pm 0,08$ и $1,77 \pm 0,52$, соответственно, $P=0,0065$).

Среди полиморфных маркеров генов хемокинов и их рецепторов только *rs16969415* гена *CCL11* был ассоциирован с пищевым поведением. Большие показатели по шкале экстернального пищевого поведения были у пациентов с генотипом CT ($4,42 \pm 0,38$ балла) по сравнению с пациентами с генотипом CC ($3,45 \pm 0,07$ баллов, $P^{\text{FDR}}=0,0066$).

В отношении генов рецепторов глутамата, ассоциация с пищевым поведением была найдена только для полиморфного маркера *rs6293* гена *GRIN1*. Более высокие показатели по шкалам рестриктивного ($3,52 \pm 0,12$ балла) и экстернального ($4,02 \pm 0,11$ балла) поведения выявлены у пациентов с СД2 с генотипами AG и GG, по сравнению с генотипом AA ($3,22 \pm 0,11$, $P^{\text{FDR}}=0,043$ и $3,64 \pm 0,10$, $P^{\text{FDR}}=0,019$, соответственно).

Полученные данные указывают на роль пути лептин-меланокортин, системы глутамата и низкоинтенсивного воспаления в формировании паттернов пищевого поведения у пациентов с СД2.

Прогностическая модель развития сахарного диабета 2 типа

В группе мужчин средние значения взвешенных полигенных оценок риска были выше в группе пациентов СД2 по сравнению с контрольной группой ($9,04 \pm 0,32$ против $7,01 \pm 0,08$, $P < 0,001$). Согласно результатам ROC-анализа, площадь под кривой (AUC) для модели взвешенных полигенных оценок риска составила 0,674 (95% CI: 0,613-0,734, $P < 0,001$).

С целью улучшения прогностической точности модели, были протестированы другие факторы, влияющие на риск СД2, такие, как возраст, ИМТ, различные паттерны пищевого поведения (ограничительное, эмоциогенное, экстернальное), отношение к приему пищи и импульсивность (Рисунок 7). Сконструирована модель, которая обладала оптимальной прогностической способностью (AUC=0,867, 95% CI: 0,806-0,928, $P < 0,001$) и включала в себя, помимо взвешенных полигенных оценок риска, также возраст, ИМТ, различные паттерны пищевого поведения (ограничительное, эмоциогенное, экстернальное), отношение к приему пищи и импульсивность (Рисунок 8).

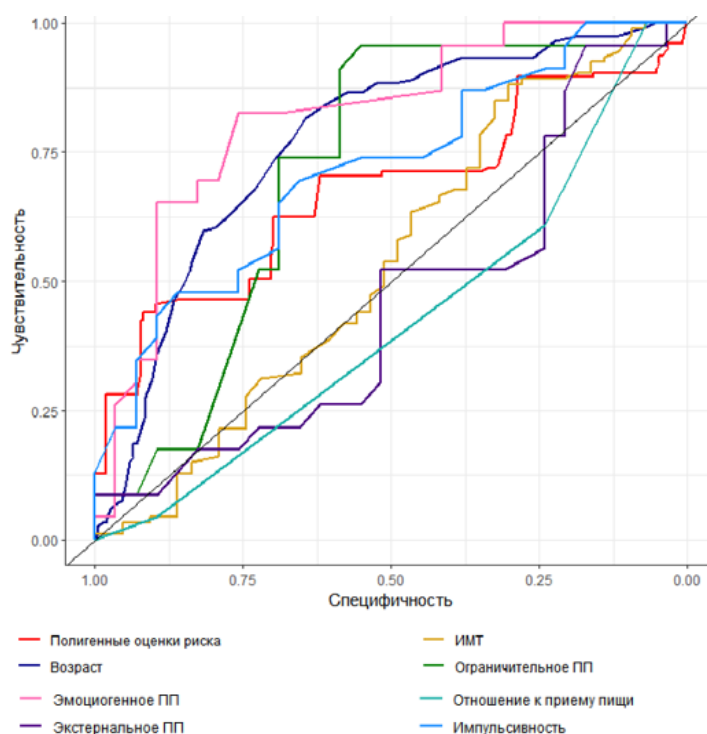


Рисунок 7 - ROC-кривые, характеризующие прогностическую способность взвешенных полигенных оценок риска, а также иных факторов (возраст, индекс массы тела, различные паттерны пищевого поведения) в отношении развития СД2 у мужчин.

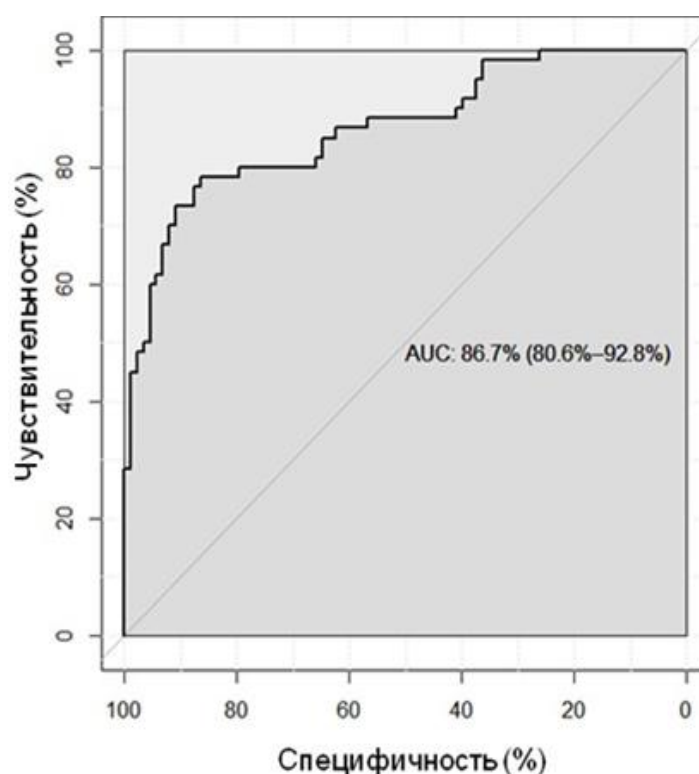


Рисунок 8 - ROC-кривая, характеризующая прогностическую способность модели, включающей в себя взвешенные полигенные оценки риска, возраст, индекс массы тела, различные паттерны пищевого поведения, в отношении развития СД2 у мужчин.

В группе женщин средние значения взвешенных полигенных оценок риска были выше в группе пациентов СД2 по сравнению с контрольной группой ($2,93 \pm 0,10$ против $2,11 \pm 0,08$, $P < 0,001$). Согласно результатам ROC-анализа, площадь под кривой (AUC) для модели взвешенных полигенных оценок риска составила 0,645 (95% CI: 0,603-0,685, $P < 0,001$). Таким образом, полученные данные указывают на среднюю прогностическую способность моделей определять принадлежность индивидуумов к группам больных СД2 и контроля.

С целью улучшения прогностической точности модели, были протестированы другие факторы, влияющие на риск СД2, такие, как возраст, ИМТ, различные паттерны пищевого поведения (ограничительное, эмоциогенное, экстернальное), отношение к приему пищи и импульсивность (Рисунок 9).

Сконструирована модель, которая обладала оптимальной прогностической способностью (AUC=0,868, 95% CI: 0,808-0,929, $P < 0,001$) и включала в себя, в дополнение к взвешенным полигенным оценкам риска, также возраст, ИМТ, различные паттерны пищевого поведения (ограничительное, эмоциогенное, экстернальное), отношение к приему пищи и импульсивность (Рисунок 10).

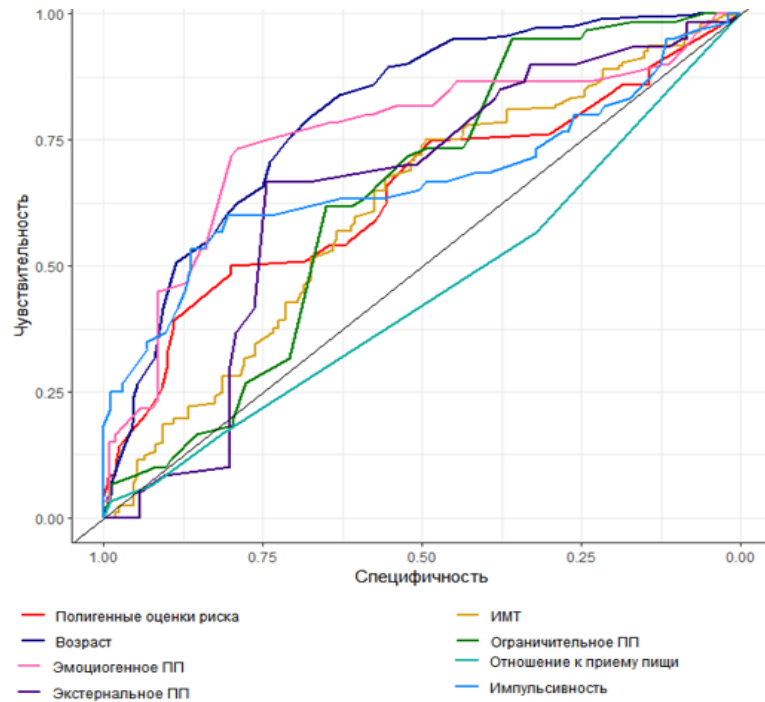


Рисунок 9 - ROC-кривые, характеризующие прогностическую способность взвешенных полигенных оценок риска, а также иных факторов (возраст, индекс массы тела, различные паттерны пищевого поведения) в отношении развития СД2 у женщин.

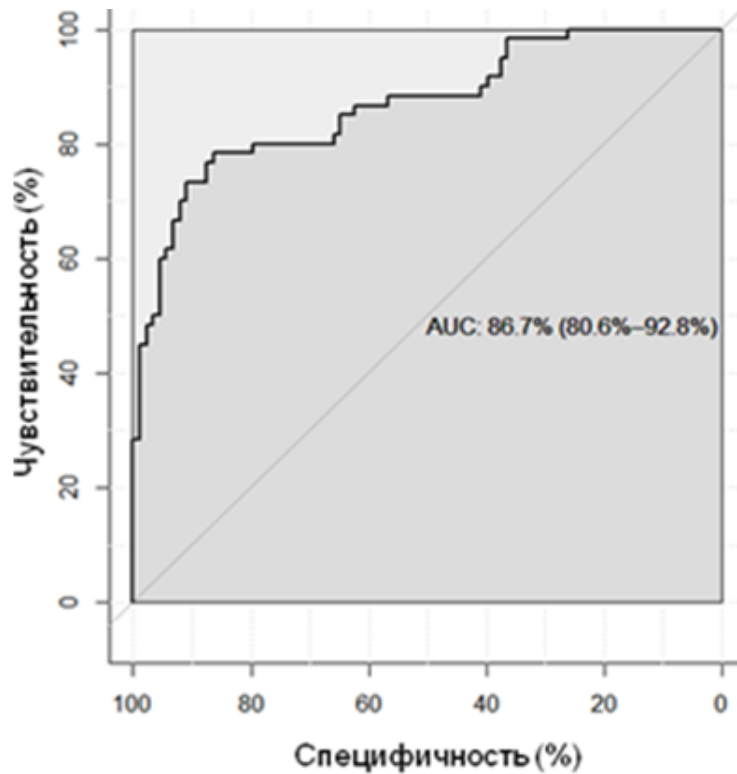


Рисунок 10 - ROC-кривая, характеризующая прогностическую способность модели, включающей в себя взвешенные полигенные оценки риска, возраст, индекс массы тела, различные паттерны пищевого поведения, в отношении развития СД2 у женщин.

На основе полученных данных, можно предложить использовать прогностическую модель СД2, включающую показатель эмоциогенного пищевого поведения, возраст, пол, ИМТ, данные молекулярно-генетического исследования (Таблица 15, 16).

Таблица 15 - Прогностическая модель риска СД2 у мужчин

| Показатель | Порог отсечения (cut-off value) | AUC (95% CI) | Чувств./ Специф. | P |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------|---------------------|---------|
| Эмоциогенное пищевое поведение | >4,1 баллов | 0,777 (0,715-0,830) | 74,7%/ 79,1% | <0,0001 |
| Возраст | > 54 лет | 0,681 (0,633-0,727) | 78%/ 50,5% | <0,0001 |
| ИМТ | >28 кг/м ² | 0,625 (0,575-0,672) | 70,5%/ 55% | <0,0001 |
| <i>CCL20 (rs6749704)</i> | Аллель риска <i>C</i> | 0,674 (0,613-0,734) | 71,6%/ 60,0% | <0,001 |
| <i>CCL2 (rs1024611)</i> | Аллель риска <i>A</i> | | | |
| <i>CCR5 (rs333)</i> | Аллель риска <i>D</i> | | | |
| <i>GRIA1 (rs2195450)</i> | Аллель риска <i>T</i> | | | |
| <i>TCF7L2 (rs7903146)</i> | Аллель риска <i>T</i> | | | |

Таблица 16 - Прогностическая модель риска СД2 у женщин

| Показатель | Порог отсечения (cut-off value) | AUC (95% CI) | Чувств./ Специф. | P |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------|---------------------|---------|
| Эмоциогенное пищевое поведение | >4,1 баллов | 0,777 (0,715-0,830) | 74,7%/ 79,1% | <0,0001 |
| Возраст | > 54 лет | 0,681 (0,633-0,727) | 78%/ 50,5% | <0,0001 |
| ИМТ | >28 кг/м ² | 0,625 (0,575-0,672) | 70,5%/ 55% | <0,0001 |
| <i>CCL20 (rs6749704)</i> | Аллель риска <i>C</i> | 0,645 (0,603-0,685) | 50,0%/ 80,0% | <0,001 |
| <i>ADIPOQ (17366743)</i> | Аллель риска <i>C</i> | | | |
| <i>TCF7L2 (rs7903146)</i> | Аллель риска <i>T</i> | | | |

ВЫВОДЫ

1. Риск развития СД2 ассоциирован с полиморфными маркерами генов хемокинов и их рецепторов, рецепторов глутамата, транскрипционного фактора 7. Выявлены гендерные различия генетической предрасположенности к СД2 по полиморфным маркерам генов.

1.1. У мужчин повышенный риск СД2 ассоциирован с генотипом *CC* полиморфного маркера *rs6749704* гена хемокина *CCL20* (OR=3,85, P^{FDR}=0,0002), генотипом *D/I* полиморфного маркера *rs333* гена рецептора хемокинов *CCR5*

(OR=4,42, $P^{\text{FDR}}=0,0208$), генотипами *CT* и *TT* полиморфного маркера *rs2195450* гена *GRIA1* (OR=2,42, $P^{\text{FDR}}=0,0002$).

1.2. Генотипами повышенного риска СД2 у женщин являются *CT* и *TT* полиморфного маркера *rs7903146* гена *TCF7L2* (OR=1,69, $P^{\text{FDR}}=0,0003$), генотип *TC* полиморфного маркера *rs17366743* гена адипонектина *ADIPOQ* (OR=2,55, $P^{\text{FDR}}=0,0168$).

2. На основании анализа полигенных взаимодействий 17-ти полиморфных маркеров в генезе СД2, идентифицировано 27 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с СД2, из них 15 ассоциированы с повышенным риском СД2, а 12 – с пониженным. Наиболее значимой комбинацией риска является сочетание генотипа *TCF7L2 rs7903146*T/T* и аллеля *LEPR rs1137100*G* (OR=7,19). Наиболее значимой протективной комбинацией является сочетание аллелей *TCF7L2 rs7903146*C*, *ADIPOQ rs17366743*T* и *CCR5 rs333*I* (OR=0,15).

3. Выявлены гендерные различия по взаимосвязи СД2 с комбинациями генотипов и/или аллелей.

3.1. У мужчин выявлено 8 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с СД2 (из них 6 - повышенного риска, 2 – пониженного). Наиболее значимой комбинацией риска является сочетание генотипа *CCL20 rs6749704*C/C* и аллеля *CCL2 rs1024611*A* (OR=6,3). Наиболее значимой протективной комбинацией является сочетание аллелей *CCL20 rs6749704*T* и *CCL11 rs16969415*C* (OR=0,20). Все сочетания в группе мужчин содержат аллели или генотипы полиморфного маркера *rs6749704* гена *CCL20*, что может являться признаком большей вовлеченности генов хемокинов в патогенез СД2 у мужчин.

3.2. У женщин выявлено 7 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с СД2 (из них 2 – повышенного риска, 5 – протективных). Наиболее значимой комбинацией риска является сочетание аллеля *LEPR rs1137100*G*, генотипа *TCF7L2 rs7903146*T/T* и аллеля *MC4R rs17782313*T* (OR=9,51). Наиболее значимой протективной комбинацией является сочетание генотипа *ADIPOQ rs17366743*T/T* и аллеля *TCF7L2 rs7903146*C* (OR=0,26). В группе женщин все сочетания содержат аллели или генотипы полиморфного маркера *rs7903146* гена *TCF7L2*, что может являться признаком большей вовлеченности гена, продукт экспрессии которого взаимосвязан с функцией бета-клеток, в патогенез СД2 у женщин.

4. Установлено, что полиморфные варианты генов рецепторов хемокинов и глутамата ассоциированы с метаболическим статусом пациентов. Генотип *I/I* гена рецептора хемокина *CCR5 (rs333)* ассоциирован с повышенными показателями общего холестерина ($P^{\text{ADJ}}=0,012$), ЛПНП ($P^{\text{ADJ}}=0,0001$) и ЛПВП ($P^{\text{ADJ}}=0,033$) у пациентов с СД2, а генотипы *AC* и *CC* гена рецептора глутамата *GRIN2B (rs1805476)* взаимосвязаны с повышенным индексом массы тела ($P^{\text{ADJ}}=0,025$) и более высоким уровнем ЛПНП ($P^{\text{ADJ}}=0,036$) у пациентов с СД2.

5. Установлены особенности фенотипа пищевого поведения у пациентов с СД2 по сравнению со здоровыми лицами и его взаимосвязь с модуляторами, реализующими патогенетические механизмы развития СД2.

5.1. У пациентов с СД2 превалирует эмоциогенный вариант нарушений пищевого поведения, независимо от степени ожирения, другие паттерны

нарушений пищевого поведения (ограничительный, экстернальный, импульсивность) выражены в меньшей степени. При наличии СД2 утрачиваются гендерные различия пищевого поведения.

5.2. Показатели эмоциогенного и экстернального пищевого поведения у пациентов с СД2 коррелируют с индексом массы тела. Установлена связь эмоциогенного пищевого поведения с постпрандиальной гликемией, экстернального пищевого поведения с постпрандиальной и тощаковой гликемией. Выявлена зависимость состояния липидного обмена пациентов с СД2 от отношения к приему пищи и импульсивности. Показаны изменения пищевого поведения в зависимости от возраста пациентов и длительности СД2.

6. Разработана прогностическая модель СД2, включающая показатели эмоциогенного пищевого поведения, возраст, пол, ИМТ, данные молекулярно-генетического исследования. При показателе эмоциогенного пищевого поведения более 4,1 балла по Голландскому опроснику пищевого поведения у лиц старше 54 лет с индексом массы тела более 28 кг/м² прогнозируется повышенный риск СД2, и может быть рекомендовано гендер-специфичное генотипирование по полиморфным маркерам генов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Использование Голландского опросника пищевого поведения в практике врача-эндокринолога позволяет выявить эмоциогенное пищевое поведение, что является неблагоприятным фактором в отношении развития СД2, и требует коррекции.
2. Лица старше 54 лет с индексом массы тела более 28 кг/м² и показателем эмоциогенного пищевого поведения более 4,1 балла по Голландскому опроснику пищевого поведения могут быть выделены в группу повышенного риска СД2, в которой рекомендовано проведение генотипирование по полиморфным маркерам генов.
3. При наличии в генотипе мужчины аллелей *CCL20 rs6749704*C*, *CCL2 rs1024611*A*, *CCR5 rs333*D*, *GRIA1 rs2195450*T*, *TCF7L2 rs7903146*T* прогнозируется высокий риск СД2 (AUC=0,867, 95% CI: 0,806-0,928, P<0,001).
4. При наличии в генотипе женщины аллелей *CCL20 rs6749704*C*, *ADIPOQ rs17366743*C*, *TCF7L2 rs7903146*T* прогнозируется высокий риск СД2 (AUC=0,868, 95% CI: 0,808-0,929, P<0,001).
5. Генотипирование локуса *rs333* гена рецептора хемокина *CCR5* может быть использовано для прогнозирования нарушений липидного обмена у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.
6. Обнаруженные гендерные различия в предрасположенности к сахарному диабету 2 типа позволяют персонафицировать подходы к медико-генетическому консультированию.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Анализ ассоциаций полиморфного маркера *rs7903146* гена *TCF7L2* с сахарным диабетом 2 типа в татарской этнической группе, проживающей в Башкортостане / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова [и др.] // Сахарный диабет. – 2016. – Т. 19, № 2. – С. 119-124. – DOI 10.14341/DM2004138-45.
2. Ассоциация полиморфного маркера *rs1801282* гена *PPARG2* с диабетической нефропатией / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова [и др.] // Генетика. – 2016. – Т. 52, № 8. – С. 985-990. – DOI 10.7868/S0016675816080038.
3. Связь эмоциогенного поведения с величиной индекса массы тела у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / Ж. Р. Балхиярова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, Т. В. Моругова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62, № 5. – С. 9. – DOI 10.14341/probl20166259.
4. Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов *LEPR* (*rs1137100*), *LRP5* (*rs3736228*) и *LPL* (*rs320*) с риском развития сахарного диабета 2-го типа / О. В. Кочетова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, Л. Ф. Шарипова [и др.] // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 4. – С. 458-467. – DOI 10.1134/S0016675819040052.
5. Ассоциация аллелей гена адипонектина с сахарным диабетом 2-го типа у жителей Башкортостана / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2019. – Т. 65, № 1. – С. 31-38. – DOI 10.14341/probl9426.
6. Молекулярные маркеры СД2 при ожирении: экспрессионный профиль генов, ключевых молекул генов воспалительного ответа в мононуклеарных клетках периферической крови / О. В. Кочетова, Л. З. Ахмадишина, **Д. Ш. Авзалетдинова** [и др.] // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19, № 5 (214). – С. 92-94. – DOI 10.25557/2073-7998.2020.05.92-94.
7. Пищевое поведение пациентов с сахарным диабетом 2 типа и полиморфизм гена рецептора меланокортина / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Т. В. Моругова, Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2020. – Т. 4, № 6. – С. 318-323. – DOI 10.32364/2587-6821-2020-4-6-318-323.
8. Гены нейротрансмиттерной системы и ген трансмембранного белка 18 в развитии пищевого поведения у пациентов с ожирением / О. В. Кочетова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, З. А. Шангареева [и др.] // Генетика. – 2021. – Т. 57, № 5. – С. 579-589. – DOI 10.31857/S0016675821050040.
9. Ассоциация полиморфных локусов предрасположенности к сахарному диабету 2 типа в различных этнических группах Российской Федерации / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Т. В. Моругова, Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова // Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24, № 3. – С. 262-272. – DOI 10.14341/DM12531.
10. Роль генов иммунного ответа в развитии сахарного диабета 2 типа / О. В. Кочетова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, Г. Ф. Корицина [и др.] // Медицина. – 2022. – Т. 10, № 4 (40). – С. 1-9. – DOI 10.29234/2308-9113-2022-10-4-1-9.

11. Пищевое поведение и аллельные варианты гена рецептора лептина у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа: одноцентровое поперечное исследование / **Д. Ш. Авзалетдинова**, О. В. Кочетова, А. З. Булгакова, Т. В. Моругова // Сеченовский вестник. – 2023. – Т. 14, № 1. – С. 15-26. – DOI 10.47093/2218-7332.2023.14.1.15-26.
12. The association between eating behavior and polymorphisms in *GRIN2B*, *GRIK3*, *GRIA1* and *GRIN1* genes in people with type 2 diabetes mellitus / O. V. Kochetova, **D. S. Avzaletdinova**, G. F. Korytina [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2020. – Vol. 47, № 3. – P. 2035-2046. doi: 10.1007/s11033-020-05304-x (**WoS, Scopus Q2**).
13. Chemokine gene polymorphisms association with increased risk of type 2 diabetes mellitus in Tatar ethnic group, Russia / O. V. Kochetova, **D. S. Avzaletdinova**, T. V. Morugova, O. E. Mustafina // Mol. Biol. Rep. – 2019. – Vol. 46, № 1. – P. 887-896. doi: 10.1007/s11033-018-4544-6 (**WoS, Scopus Q2**).
14. Integrating Common Risk Factors with Polygenic Scores Improves the Prediction of Type 2 Diabetes / Y. Timasheva, Z. Balkhiyarova, **D. Avzaletdinova** [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24, № 2. – P. 984. <https://doi.org/10.3390/ijms24020984> (**WoS, Scopus Q1**).
15. Polygenic scores together with common risk factors are informative predictors of metabolic health / Y. Timasheva, Z. Balkhiyarova, **D. Avzaletdinova** [et al.] // Journal of Hypertension. – 2023. – Vol. 41 (Suppl. 3). – P. e196. doi: 10.1097/01.hjh.0000940924.38513.b4 (**WoS, Scopus Q1**).
16. Способ прогнозирования развития сахарного диабета 2 типа у населения Башкортостана: пат. № 2688208 С1 Рос. Федерация, МПК G01N 33/48 / **Авзалетдинова Д. Ш.**, Кочетова О. В., Моругова Т. В. [и др.]; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Башкирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. - № 2018112945; заявл. 09.04.2018; опубл. 21.05.2019.

Публикации в других изданиях:

1. Генетические механизмы развития сахарного диабета 2 типа / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Л. Ф. Шарипова, Т. В. Моругова, О. Е. Мустафина // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2014. – № 4. – С. 6-21.
2. Полиморфный маркер гена белка типа 5, связанного с рецептором липопротеинов низкой плотности, и сахарный диабет 2 типа / Л. Ф. Шарипова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, О. В. Кочетова [и др.] // Сахарный диабет в XXI веке - время объединения усилий : сборник тезисов VII Всероссийского диабетологического конгресса, Москва, 24–28 февраля 2015 года. – М.: УП Принт, 2015. – С. 49.
3. Ассоциация полиморфного маркера *rs17366743* гена *ADIPOQ* с сахарным диабетом типа 2 у жителей Башкортостана / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова [и др.] // Достижения персонализированной медицины сегодня - результат практического здравоохранения завтра : сборник

тезисов VII Всероссийского конгресса эндокринологов, Москва, 02–05 марта 2016 года / ФГБУ "Эндокринологический научный центр" Минздрава России; Министерство здравоохранения Российской Федерации; Общественная организация "Российская ассоциация эндокринологов". – М.: УП Принт, 2016. – С. 64.

4. Шарипова, Л. Ф. Нарушения пищевого поведения при сахарном диабете 2 типа / Л. Ф. Шарипова, Д. Ш. Авзалетдинова // Сахарный диабет - 2017: от мониторинга к управлению : материалы II Российской мультидисциплинарной конференции с международным участием, Новосибирск, 19–20 апреля 2017 года. – Новосибирск: ООО "Манускрипт", 2017. – С. 152-155.

5. Ассоциация полиморфных маркеров генов *SAA*, *CCR5*, *CXCL12* и *CX3CR1* осложнениями сахарного диабета 2 типа / О. В. Кочетова, Л. З. Ахмадишина, Г. Ф. Корытина, Д. Ш. Авзалетдинова [и др.] // Молекулярная диагностика 2017 : сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Москва, 18–20 апреля 2017 года. – М.: ООО фирма «Юлис», 2017. – С. 70-71.

6. Анализ межгенных взаимодействий при формировании наследственной предрасположенности к сахарному диабету 2 типа / Л. Ф. Шарипова, Д. Ш. Авзалетдинова, О. В. Кочетова [и др.] // Сахарный диабет - пандемия XXI : сборник тезисов VIII (XXV) Всероссийского диабетологического конгресса с международным участием, Москва, 28–03 февраля 2018 года / ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России; ОО «Российская ассоциация эндокринологов». – М.: УП Принт, 2018. – С. 229-230.

7. Рассолеева, И. Г. Характеристика пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа в Республике Башкортостана / И. Г. Рассолеева, Д. Ш. Авзалетдинова, Т. В. Моругова // Сахарный диабет - пандемия XXI: сборник тезисов VIII (XXV) Всероссийского диабетологического конгресса с международным участием, Москва, 28–03 февраля 2018 года / ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России; ОО «Российская ассоциация эндокринологов». – М.: УП Принт, 2018. – С. 538-539.

8. Риск сердечно-сосудистой патологии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в зависимости от полиморфизма *rs7903146* гена транскрипционного фактора 7 / Д. Ш. Авзалетдинова, Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова [и др.] // Сахарный диабет: макро- и микрососудистые осложнения : сборник тезисов II Всероссийской конференции с международным участием, Москва, 04–05 ноября 2017 года. – М.: УП Принт, 2017. – С. 7.

9. Гены нейротрансмиттерной системы при формировании СД2 / О. В. Кочетова, Г. Ф. Корытина, Д. Ш. Авзалетдинова, О. Е. Мустафина // VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы : сборник тезисов Международного Конгресса, Санкт-Петербург, 18–22 июня 2019 года. – СПб.: ООО "Издательство ВВМ", 2019. – С. 595.

10. Полиморфные варианты генов системы воспаления у больных сахарным диабетом 2 типа с ожирением / О. В. Кочетова, Г. Ф. Корытина, Д. Ш. Авзалетдинова, О. Е. Мустафина // Сахарный диабет, его осложнения и

хирургические инфекции : сборник тезисов III Всероссийской конференции с международным участием, Москва, 19–21 ноября 2019 года. – М.: ООО "Типография "Печатных Дел Мастер", 2019. – С. 44.

11. Вклад гена глутаматергической системы *GRIA1* в формирование сахарного диабета 2 типа / Д. Ш. Авзалетдинова, О. В. Кочетова, Л. Ф. Шарипова, Т. В. Моругова // Персонализированная медицина и практическое здравоохранение : сборник тезисов VIII (XXVI) национального Конгресса эндокринологов с международным участием, Москва, 22–25 мая 2019 года. – М.: УП Принт, 2019. – С. 107.

12. Полиморфные варианты генов NMDA-рецепторов у больных сахарным диабетом 2 типа / О. В. Кочетова, Г. Ф. Корытина, Д. Ш. Авзалетдинова, О. Е. Мустафина // Персонализированная медицина и практическое здравоохранение : сборник тезисов VIII (XXVI) национального Конгресса эндокринологов с международным участием, Москва, 22–25 мая 2019 года. – М.: УП Принт, 2019. – С. 114-115.

13. Эпидемиология сахарного диабета в республике Башкортостан / Т. В. Моругова, Д. Ш. Авзалетдинова, И. В. Моругова [и др.] // Сахарный диабет и ожирение - неинфекционные междисциплинарные пандемии XXI века : сборник тезисов IX (XXVIII) Национального диабетологического конгресса с международным участием, Москва, 05–08 сентября 2022 года / ОО «Российская ассоциация эндокринологов»; ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. – М.: Б. и., 2022. – С. 140. – DOI 10.14341/Conf05-08.09.22-140.

14. Генетические основы сахарного диабета: учебное пособие / сост.: Д. Ш. Авзалетдинова, Т. В. Моругова, Е. М. Степанова [и др.]. – Уфа: Изд-во «Здравоохранение Башкортостана», 2017. - 96 с.

15. Утарбаева, Э. Р. Выявление факторов риска сахарного диабета 2 типа и их структуры среди населения г. Уфы / Э. Р. Утарбаева, Д. Ш. Авзалетдинова, Т. В. Моругова // Сборник тезисов Всероссийского конгресса эндокринологов, Москва, 27-31 мая 2012 года. – М., 2012. – С. 18.

16. Шарипова, Л. Ф. Дислипидемия как фактор липотоксичности у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / Л. Ф. Шарипова, Д. Ш. Авзалетдинова, Т. В. Моругова // Инновационные технологии в эндокринологии: сборник тезисов II Всероссийского конгресса с участием стран СНГ, Москва, 25-28 мая 2014 года. - М., 2014. - С. 205.

17. Шарипова, Л. Ф. Анализ ассоциаций полиморфного локуса *rs17782313* гена *MC4R* / Л. Ф. Шарипова, О. В. Кочетова, Д. Ш. Авзалетдинова // Санкт-Петербургские научные чтения – 2015: сборник тезисов VI международного медицинского конгресса, Санкт-Петербург, 2-4 декабря 2015 года. – СПб., 2015. - С. 182.

18. Взаимосвязь межгенных взаимодействий с сахарным диабетом 2 типа / Д. Ш. Авзалетдинова, О. В. Кочетова, Я. Р. Тимашева [и др.] // Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике : сборник тезисов конференции по лечению и диагностике сахарного диабета, Москва, 07-08 сентября 2022 года. – М., 2022. - С. 9.

19. Полиморфные варианты генов серотониновой системы при развитии ожирения и сахарного диабета 2 типа у женщин / О. В. Кочетова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, А. З. Булгакова, Г. Ф. Корытина // *Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике : сборник тезисов конференции по лечению и диагностике сахарного диабета*, Москва, 07-08 сентября 2022 года. – М., 2022. - С. 72.
20. Авзалетдинова, Д. Ш. Оценка риска развития сахарного диабета 2 типа / **Д. Ш. Авзалетдинова**, Э. Р. Утарбаева // *Материалы 77-й Российской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной 80-летию БГМУ*. – Уфа, 2012. – С. 209-211.
21. Анализ полиморфных маркеров генов, ассоциированных с ожирением, у женщин с метаболическим синдромом (тезисы) / О. В. Кочетова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, А. А. Карпов [и др.] // *Сахарный диабет в XXI веке – время объединения усилий : сборник тезисов VII Всероссийского диабетологического конгресса*, Москва, 25-27 февраля 2015 года. - М., 2015. - С. 39.
22. Гены, ассоциированные с ожирением, в развитии метаболического синдрома и кластера метаболических параметров у женщин / О. В. Кочетова, Л. З. Ахмадишина, Г. Ф. Корытина, А. А. Карпов, **Д. Ш. Авзалетдинова** [и др.] // *Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии : сборник трудов конференции*, Курск, 17-19 мая 2016 года. – Курск, 2016. – С. 64-65.
23. Гены нейротрансмиттеры в развитии ожирения / О. В. Кочетова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, З. А. Шангареева [и др.] // *Геномная медицина в пренатальной диагностике, генетическом паспорте и в генной терапии : сборник научных трудов VII Всероссийской научной конференции с международным участием*, Санкт-Петербург, 12-13 ноября 2020 года. – СПб., 2020. - С. 50-53.
24. Анализ полиморфных вариантов гена GHRL и показателей психологического скрининга у больных сахарным диабетом 2 типа / О. В. Кочетова, **Д. Ш. Авзалетдинова**, А. З. Булгакова [и др.] // *Биомика*. – 2022. – Т. 14, № 4. – С. 322-328. – DOI 10.31301/2221-6197.bmc.2022-32.
25. Кочетова, О.В. Анализ профиля транскрипционной активности ряда длинных некодирующих РНК у больных сахарным диабетом 2 типа / О.В. Кочетова, **Д.Ш. Авзалетдинова**, Г.Ф. Корытина // *Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике : сборник тезисов конференции по лечению и диагностике сахарного диабета*, Москва, 25-25 мая 2023 года. – М., 2023. - С. 51.
26. Роль генов нейромедиаторных систем в развитии сахарного диабета 2 типа / О.В. Кочетова, **Д.Ш. Авзалетдинова**, А.П. Ларкина [и др.] // *Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике : сборник тезисов конференции по лечению и диагностике сахарного диабета*, Москва, 25-25 мая 2023 года. – М., 2023. - С. 52.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГБ – гипертоническая болезнь
 ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
 ЛПВП – липопротеины высокой плотности
 ЛПНП – липопротеины низкой плотности
 ОХС – общий холестерин
 ПИКС- постинфарктный кардиосклероз
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 СД2 - сахарный диабет 2 типа
 ТГ - триглицериды
 ЦВЗ – цереброваскулярные заболевания
 ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
ADIPOQ – ген адипонектина
 AIC (англ. Akaike information criterion) - информационный критерий Акаике
 AUC (англ. area under ROC curve) – площадь под кривой
 β – бета-коэффициент регрессии
CCL2 (англ. chemokine C-C motif ligand 2) – ген C-C хемокина 2
CCL5 (англ. chemokine C-C motif ligand 5) – ген C-C хемокина 5
CCL11 (англ. chemokine C-C motif ligand 11) – ген C-C хемокина 11
CCL17 (англ. chemokine C-C motif ligand 17) – ген C-C хемокина 17
CCL20 (англ. chemokine C-C motif ligand 20) – ген C-C хемокина 20
CCR5 (англ. chemokine receptor 5) – ген рецептора C-C хемокина 5
 95% CI (англ. confidence interval) – 95% доверительный интервал
CX3CR1 (англ. chemokine receptor) – ген рецептора CX3CL1-хемокина фракталкина
 DEBQ (англ. The Dutch Eating Behaviour Questionnaire) - Голландский опросник пищевого поведения
 ЕАТ-26 (англ. Eating Attitudes Test) - тест отношения к приему пищи
 FDR (англ. false discovery rate) - поправка на множественность сравнений по методу Бенджамини-Хохберга
 HbA_{1C} - гликозилированный гемоглобин
IL1B (англ. interleukin 1 β) – ген интерлейкина 1 β
IL4 (англ. interleukin 4) – ген интерлейкина 4
IL6 (англ. interleukin 6) – ген интерлейкина 6
IL10 (англ. interleukin 10) – ген интерлейкина 10
GRIA1 (англ. gene of glutamate receptor, ionotropic, alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate 1) – ген ионотропного α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол пропионатного рецептора глутамата 1
GRIK3 (англ. gene of glutamate receptor, ionotropic, kainate 3) – ген ионотропного каинатного рецептора глутамата 3
GRIN1 (англ. gene of glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 1) - ген ионотропного рецептора глутамата N-метил-D-аспартат 1
GRIN2B (англ. gene of glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2B) - ген ионотропного рецептора глутамата N-метил-D-аспартат 2B

LEPR (англ. leptine receptor) – ген рецептора лептина
LPL (англ. lipoproteinlipase) - гена липопротеинлипазы
LRP5 (англ. low-density lipoprotein receptor-related protein 5) – ген рецептора липопротеинов низкой плотности
MAF (англ. minor allele frequency) – частота минорного аллеля
MC4R (melanocortin receptor 4) – ген рецептор меланокортина 4 типа
 ИМТ – индекс массы тела
NMDAR (англ. N-methyl-D-aspartate receptor) – рецептор N-метил-D-аспартата
OR (англ. odds ratio) - показатель соотношения шансов
 P^{ADJ} – вероятность нулевой гипотезы с поправкой на ко-вариаты
 P_{Bonf} - вероятность нулевой гипотезы с поправкой Бонферони на множественность сравнений
 P^{FDR} - вероятность нулевой гипотезы с поправкой на множественность сравнений по методу Бенджамини-Хохберга FDR (англ. false discovery rate)
PPARG (англ. peroxisome proliferator-activated receptor gamma) – ген активируемого пролифераторами пероксисом рецептора гамма
 R^2 – коэффициент детерминации
ROC (англ. receiver operating characteristic) – рабочая характеристика приемника
SNP (англ. single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм
TCF7L2 (англ. transcription factor 7 like 2) – ген фактора транскрипции 7-подобного 2
TNFA (англ. tumor necrosis factor α) – ген фактор некроза опухоли α