

УДК: 616.14-007.64

АНАЛИЗ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА C936T ГЕНА VEGFA С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Василевский Эдуард Александрович, Мусашайхов Хусанбой Таджибаевич, Дадабаев Омонжон Талибжанович
Андижанский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Андижан

ОЎҚЛАР ВЕНАЛАРИНИНГ СУРУНКАЛИ ВЕНОЗ ЕТИШМОВЧИЛИГИНИ РИВОЖЛАНИШИДА VEGFA C936T ПОЛИМОРФИЗМИНИНГ ЎРНИНИ ТАҲЛИЛ КИЛИШ

Василевский Эдуард Александрович, Мусашайхов Хусанбой Таджибаевич, Дадабаев Омонжон Талибжанович
Андижон давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Андижон ш.

ANALYSIS OF THE ROLE OF C936T POLYMORPHISM OF THE VEGFA GENE WITH THE DEVELOPMENT OF CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY OF THE LOWER LIMB VEINS

Vasilevsky Eduard Alexandrovich, Musashaikhov Khusanboy Tadjibaevich, Dadabaev Omonjon Talibzhanovich
Andijan State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Andijan

e-mail: ed1970doctor@mail.ru

Резюме. 98 беморда VEGFA генида C936T полиморфизмининг аллеллари ва генотипларининг тарқалиш частотасини ўрганиш орқали сурункали веноз етишмовчилик ривожланишининг генетик хавф омилини таҳлил қилиш амалга оширилди. Иккала гуруҳда C807T полиморфизми генотипларининг ҳақиқий тақсимоти Hardy-Weinberg мувозанатида кутилганларга тўғри келди ($p < 0,05$). Сурункали веноз етишмовчиликни ривожланиш хавфи ва VEGFA генида C807T полиморфизми генотипларининг мойиллик/ҳимоя қилиш вариантларини тақсимлаш ўртасида сезиларли алоқа ўрнатилди. Ушбу маълумотлар сурункали веноз етишмовчиликнинг пайдо бўлиши ва ривожланиши хавфини тахмин қилиш учун ушбу локусни текширишни таклиф қилиш имконини беради.

Калит сўзлар: сурункали веноз етишмовчилик, қон томир эндотелиал ўсиш омилли, генетик полиморфизм, VEGFA.

Abstract. In 98 patients, an analysis of the genetic risk factor for the development of chronic venous insufficiency was carried out by studying the frequency of distribution of alleles and genotypes of the C936T polymorphism in the VEGFA gene. In both groups, the actual distribution of C807T polymorphism genotypes corresponded to those expected under the Hardy-Weinberg equilibrium ($p < 0.05$). A significant relationship was established between the risk of developing chronic venous insufficiency and the distribution of predisposing/protective variants of the C807T polymorphism genotypes in the VEGFA gene. These data allow us to suggest testing this locus to predict the risk of occurrence and progression of chronic venous insufficiency.

Key words: chronic venous insufficiency, vascular endothelial growth factor, genetic polymorphism, VEGFA.

Актуальность проблемы. Сахарный диабет (СД) — хроническое заболевание обмена веществ. Более 382 миллионов человек во всем мире страдают СД, распространенность сахарного диабета 2 типа (СД2) у детей и подростков растет во всем мире параллельно с увеличением показателей ожирения [1]. К 2030 году СД может стать седьмой по значимости причиной смерти человека [2]. СД связан с микрососудистыми и макрососудистыми осложнениями, которые считаются одной из основных причин заболеваемости и смертности. Хронические осложнения, особенно микрососудистые осложнения (диабетическая ретинопатия, нефропатия, болезни стопы, невропатия), являются основным опасным исходом этого заболевания. Хронические воспалительные процессы участвуют в развитии диабетических микрососудистых осложнений. Воспалительные цитокины, включая интерлейкин-6 (ИЛ-6), играют важную роль в патогенезе СД2 и его осложнений [3].

В последнее время все большее внимание привлекает однонуклеотидный полиморфизм (SNP) гена IL-6. Значительная вариация последовательности гена IL-6 174G/C широко распространена при различных уровнях IL-6 в сыворотке у генетически восприимчивых людей [4]. Было обнаружено, что полиморфизм G/C в положении-174 в промоторной области IL-6 (rs1800795) коррелирует с ретинопатией, нефропатией [5], повышенным отношением альбумина к креатинину, а также с плохим гликемическим контролем и гиперлипидемией при диабете 1 типа, сахарный диабет (СД1) [6]. Однако результаты текущих исследований участия этого SNP rs1800795 в диабетических осложнениях при СД2 противоречивы. Остается неясным, могут ли полиморфизмы гена IL-6 rs1800795 служить генетическими предикторами прогрессирования осложнений при СД2 и способствовать выявлению пациентов с высоким риском диабетических осложнений, тем самым помогая им в индивидуальном лечении. Для реализации основных принципов современной персонализированной медицины актуальным является исследование генетического аспекта мультифакториальных заболеваний, к которым относится сахарный диабет и его осложнения, с целью выявления многочисленных генетических полиморфизмов, которые следует учитывать в сочетании с модифицируемыми и немодифицируемыми негенетическими факторами [9].

Материал и методы исследования. Для решения поставленных задач нами было проведено генетическое исследование у 96 больных, находившихся в на лечении в отделениях клиники Андижанского государственного медицинского института, которые составили основную группу. Критериями включения являлись: наличие сахарного диабета 2 тип, возраст больных от 40 до 75 лет. Контрольную группу составили 83 здоровых лиц.

Определение аллельных и генотипических вариантов полиморфизма в гене IL6 (C174G) проводили в отделе молекулярной медицины и клеточных технологии на базе Республиканского научно-практического медицинского центра гематологии МЗ РУз. Основным методом молекулярно – генетического исследования был ПЦР-анализ. Выделение геномной ДНК проводили из лимфоцитов периферической крови пациентов с помощью набора для выделения AmpliPrime RIBO-prep (ООО «Интерлабсервис», Россия). Исследование проводилось методом количественного ПЦР-анализа в реальном времени (Real-Time PCR). Амплификацию проводили с использованием термоциклера для ПЦР-анализа в реальном времени - Rotor Gene Q, (Quagen, Германия). Для определения генетических маркеров использовали тест-системы компании «Синтол» (Россия) согласно инструкции производителя. Для сравнения распределения генотипов в экспериментальной и контрольной группах а также соответствия этого распределения равновесию Харди-Вайнберга применяли χ^2 - критерий Пирсона. Для установления риска развития СДС рассчитывали отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал (CI). Для статистической обработки полученных результатов использовали пакет приложений «OpenEpi, 2009», Версия 9.2. При проведении статистического анализа руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений, процентных долей.

Полученные результаты и их обсуждение. В ходе исследования в основной группе фактическое распределение генотипов полиморфизма C174G гена IL6 соответствовало ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга (PXB) ($p < 0.05$). А также, в группе контроля наблюдаемое распределение генотипов полиморфизма C174G гена IL6 тоже не отклонялся от равновесии Харди-Вайнберга (PXB) ($p < 0.05$). Частота G и C аллелей соответственно составили: 0.76/0.24 - в группе пациентов и 0.89/0.11 в группе контроля (табл.1,2). В группе пациентов наблюдаемое распределение гомозиготного генотипа G / G незначимо повышено по сравнению с теоретическим (0.59 против 0.57, соответственно; $\chi^2=0.09$; $p=0.207$). Напротив, наблюдаемая частота неблагоприятного гетерозиготного генотипа G /C статистически незначимо ниже по сравнению с ожидаемой (0.32 против 0.37 соответственно; $\chi^2=0.88$; $p=0.207$). Мутантный генотип C/C в исследованных группах был обнаружен в незначимых количествах в сравнении с ожидаемым – 0.08 против 0.06 при $\chi^2=1.54$; $p=0.207$.

При анализе полиморфизма C936T в гене VEGFA не выявлено отклонения распределений генотипов от ожидаемых при равновесии Харди-Вайнберга (PXB) ($\chi^2=1,43$, $p=0,225$ в основной группе; $\chi^2=1,91$, $p=0,166$ в контрольной группе).

Частота распределения генотипов C/C, C/T и T/T составила: 66%, 28.3 % и 5.7 % соответственно – в основной группе и 77%, 19,5% и 3,4% – в контрольной группе. Как видно из полученных нами данных комбинация генотипов C/T и T/T полиморфизма C936T в гене VEGFA указывает на более высокий риск развития тяжелых форм хронической венозной недостаточности (CEAP C5-C6) (OR =1,6 и 1,7; 95 % CI=0,73 – 3,6 и 0,33 – 8,51).

Таблица 1. Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов локуса по PXB (полиморфизм C936T в гене VEGFA)

Основная группа					
Аллели	Частота аллелей				
С	0,78				
Т	0,22				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	p	df
	наблюдаемая	ожидаемая			
С/С	0,62	0,6	0,07		
С/Т	0,31	0,35	0,5		
Т/Т	0,07	0,05	0,86		
Всего	1	1	1,43	0,225	1
Контрольная группа					
Аллели	Частота аллелей				
С	0,87				
Т	0,13				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	p	df
	наблюдаемая	ожидаемая			
С/С	0,77	0,75	0,03		
С/Т	0,2	0,23	0,44		
Т/Т	0,03	0,02	1,44		
Всего	1	1	1,91	0,166	1
Группы	Ho	He	D*		
Основная группа	0,31	0,35	-0,12		
Контрольная группа	0,2	0,23	-0,15		

Примечание: D = (Ho - He)/He

Таблица 2. Различия в частоте аллельных и генотипических вариантов полиморфизма C936T в гене VEGFA в группах пациентов с тяжелой формой ХВН (С5-С6) и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов				χ^2	p	RR	95%CI	OR	95%CI
	ХВН (С5-С6)		Контрольная группа							
	n	%	n	%						
С	85	80,2	151	86,8	2,2	p = 0,2	0,9	0,46 - 1,85	0,6	0,32 - 1,17
Т	21	19,8	23	13,2	2,2	p = 0,2	1,1	0,6 - 1,94	1,6	0,85 - 3,09
С/С	35	66,0	67	77,0	2,0	p = 0,2	0,9	0,37 - 1,99	0,6	0,27 - 1,23
С/Т	15	28,3	17	19,5	1,4	p = 0,3	1,4	0,6 - 3,49	1,6	0,73 - 3,6
Т/Т	3	5,7	3	3,4	0,4	p = 0,6	1,6	0,32 - 8,34	1,7	0,33 - 8,51

Изменения активности VEGF наблюдались при многих заболеваниях системы кровообращения [2,4,9]. VEGFA увеличивает проницаемость существующих кровеносных сосудов, помогая поддерживать воспаление, обеспечивая миграцию лейкоцитов к месту назначения.

Таким образом, полученные в ходе проведенного исследования результаты достоверно свидетельствуют о наличии ассоциации носительства аллеля Т и генотипов С/Т и Т/Т полиморфизма C936T в гене VEGFA с риском развития осложненных форм ХВН.

Выводы:

1. Аллель С и генотип С/С полиморфизма C936T гена VEGFA являются протективными факторами в отношении развития осложненных форм ХВН.

2. Проведенные исследования в местной популяции подтвердили наличие ассоциации гетерозиготного генотипа С/Т и мутантного гомозиготного генотипа Т/Т полиморфизма C936T гена VEGFA с риском развития осложненных форм ХВН.

Литература:

- Davies, A.H. The Seriousness of Chronic Venous Disease: A Review of Real-World Evidence. *Adv. Ther.* 2019, 36, 5–12.
- Iaresko M., Kolesnikova E. The role of polymorphism - 634 G/C (rs2010963) of VEGF-A gene in the development of hypertension and obesity in premenopausal women // *Georgian. Med. News.* – 2016. – Vol. 256-257. – P. 33-37.
- Kowalewski R., Sobolewski K., Wolanska M., Gacko M. Matrix metalloproteinases in the vein wall // *Int. Angiol.* – 2004. – Vol. 23, №2. – P. 164-169.
- Ligi, D.; Croce, L.; Mannello, F. Chronic venous disorders: The dangerous, the good, and the diverse. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 2544.
- Melinovic C.S., Boşca A.B., Şuşman S. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) – key factor in normal and pathological angiogenesis // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2018. – Vol. 59, №2. – P. 455-467.
- Müller-Bühl U., Leutgeb R., Engeser P. et al. Varicose veins are a risk factor for deep venous thrombosis in general practice patients // *Vasa.* – 2012. – Vol. 41, №5. – P. 360-365.
- Nicolaidis, A.N.; Labropoulos, N. Burden and Suffering in Chronic Venous Disease. *Adv. Ther.* 2019, 36
- Posch F., Thaler J., Zlabinger G.J. et al. Soluble Vascular Endothelial Growth Factor (sVEGF) and the Risk of Venous Thromboembolism in Patients with Cancer: Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS) // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, №1. – P. 200-206.
- Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases // *J. Biochem.* – 2013. – Vol. 153, №1. – P. 13-9.
- Wang Y., Zheng G., Meng X., Wang B. The effects of VEGF on deep venous thrombosis in the perioperative period of elderly fracture patients // *Pak. J. Pharm. Sci.* – 2018. – Vol. 31, №6 (Special). – P. 2799-2803.

АНАЛИЗ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА C936T ГЕНА VEGFA С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Василевский Э.А., Мусашайхов Х.Т., Дадабаев О.Т.

Резюме. У 98 больных проведен анализ генетического фактора риска развития хронической венозной недостаточности путём исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма C936T в гене VEGFA. В обеих группах фактическое распределение генотипов полиморфизма C807T соответствовало ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p < 0,05$). Установлена значимая зависимость между риском развития хронической венозной недостаточности и распределением предрасполагающих/протективных вариантов генотипов полиморфизма C807T в гене VEGFA. Эти данные позволяют предложить тестирование данного локуса для прогнозирования риска возникновения и прогрессирования хронической венозной недостаточности.

Ключевые слова: хроническая венозная недостаточность, сосудистый эндотелиальный фактор роста, генетический полиморфизм, VEGFA.