

# Патогенетична роль ендотеліну-1 та поліморфізму його рецепторів при цукровому діабеті 2-го типу

С.В. Зяблицев<sup>1</sup>, О.П. Чернобривцев<sup>1</sup>, Д.С. Зяблицев<sup>2</sup>, О.О. Стародубська<sup>1</sup>, Ц.Б. Абряхімова

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ; e-mail: zsv1965@gmail.com;

<sup>2</sup>Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет»

*Метою дослідження було визначення патогенетичної ролі ендотеліну-1 (ЕТ1) та зв'язку поліморфізмів rs6842241 гена EDNRA та rs5351 гена EDNRB з цукровим діабетом 2-го типу (ЦД2Т) та його ускладненнями в когорті українських хворих. Обстежено 152 хворих віком 53,9±8,4 років та 95 осіб контрольної групи. Генетичні поліморфізми визначали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology; США). Було показано наявність зв'язку підвищеного вмісту у крові ЕТ1 (у 3,7-4,7 разів) та оксиду азоту (NO; у 1,4-1,5 разів) з прогресуванням захворювання. Приріст вмісту ЕТ1 був пов'язаний з розвитком ретино-, нефропатії за рівнями мікроальбумінурії та швидкістю клубочкової фільтрації, сенсорної полінейропатії та артеріальної гіпертензії, а NO – з артеріальною гіпертензією та макроангіопатією нижніх кінцівок. Поліморфізми генів ендотелінових рецепторів мали зв'язок з розвитком ЦД2Т: для rs6842241 підвищення ризику було асоційовано з мінорною алеллю А (відношення шансів 1,87; 95% вірогідний інтервал 1,20-2,92; P=0,005); для rs5351 – з предковою алеллю С (відношення шансів 1,54; 95% вірогідний інтервал 1,05-2,25; P=0,026). Ці алелі визначали достеменно більш високий вміст у крові ЕТ1. Крім того, алель ризику А rs6842241 сприяла більшим значенням індексу маси тіла, систолічного і діастолічного тиску та вмісту у крові тригліцеридів порівняно з алеллю С. Носії алелі ризику С rs5351 хворіли на три роки довше, у них були більший вміст у крові сечовини і креатиніну, рівень мікроальбумінурії та менша швидкість клубочкової фільтрації, ніж у носіїв алелі Т. Таким чином, через безпосередній вплив на клініко-лабораторні показники та розвиток ускладнень, rs6842241 та rs5351 погіршували тяжкість ЦД2Т.*

*Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу; ускладнення, ендотелін-1; поліморфізми rs6842241 гена EDNRA та rs5351 гена EDNRB.*

## ВСТУП

Клінічний перебіг цукрового діабету 2-го типу (ЦД2Т) залежить у першу чергу від появи появи та прогресування ускладнень [1,2]. Для формування судинних порушень ключовим є поняття ролі ендотеліну, який є динамічною регулюючою системою як при фізіологічних, так і при патологічних процесах [3,4]. Основним гормоном ендотелію є ендотелін – пептид, який містить 21 амінокислоту та має вазоактивний, натрійуретичний, проліферативний та гемостатичний ефекти [5]. Існують три ізоформи пептиду, які експресуються у різних тканинах (найбільш активним є ендотелін-1 – ЕТ1)

© С.В. Зяблицев, О.П. Чернобривцев, Д.С. Зяблицев, О.О. Стародубська, Ц.Б. Абряхімова

та два типи рецепторів: EDNRA і EDNRB. Перші представлені у гладеньких м'яцях та активують вазоконстрикцію і затримку натрію, що підвищує артеріальний тиск, другі – знаходяться на клітинах ендотелію та підвищують екскрецію натрію, збільшення діурезу та утворення оксиду азоту (NO), що в цілому зменшує артеріальний тиск. Фізіологічні концентрації ЕТ1 активують EDNRB (гіпотензивний ефект), а високі – EDNRA (гіпертензивний ефект).

Результати дослідження Лі та співавт. [6] переконливо показали, що ендотеліальна дисфункція та система ЕТ1 і його рецепторів бере активну участь у розвитку діабетичних

судинних ускладнень. Так, при ЦД2Т визначена підвищена експресія ET1 і рецепторів EDNRA, що відповідало ступеню нефропатії [5]. У роботі словенських вчених доведена наявність зв'язку поліморфізмів гена EDNRB з розвитком діабетичної ретинопатії [7]. Такі дані дали змогу рекомендувати використання антагоністів ET1 для лікування діабетичної хвороби нирок: доклінічні експериментальні дослідження показали, що антагоністи рецептора ET1 знижували протеїнурію і мали нефропротекторну дію [8].

Метою нашого дослідження було визначення патогенетичної ролі ET1 та зв'язок поліморфізмів rs6842241 гена EDNRA та rs5351 гена EDNRB з ЦД2Т та його ускладненнями.

## МЕТОДИКА

Обстежено 152 хворих на ЦД2Т, які не мали родинних зв'язків, та були етнічними українцями. Вік пацієнтів становив від 34 до 80 років, у середньому  $53,9 \pm 8,4$  років. Жінок було 95 (62,5 %), чоловіків – 57 (37,5 %). За рекомендаціями [1,9,10] відповідно до результатів клініко-лабораторних обстежень визначали наявність діабетичних ретинопатії, нефропатії за рівнями альбумінурії та швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), сенсорної полінейропатії, макроангіопатії нижніх кінцівок та артеріальної гіпертензії. Серед хворих не було виявлено жодного із I ступенем тяжкості, II – діагностовано у 120 (78,9 %) та III – у 32 (21,1 %). Хворих із II ступенем тяжкості було розподілено на дві групи: 1-шу склали 57 (37,5 %) та 2-гу – 63 (41,4 %) особи. Критерієм їх розподілу був стан компенсації діабету, визначений за вмістом у крові глікованого гемоглобіну (HbA1c): в 1-шу групу були залучені хворі в стані компенсації або задовільної компенсації (HbA1c 7-9%); в 2-гу – хворі у стані декомпенсації (HbA1c більше ніж 9 %). Хворі з III ступенем тяжкості склали 3-тю групу. До контрольної групи ввійшли

95 практично здорових осіб відповідного вікового та гендерного розподілу, які не мали порушень вуглеводного обміну і симптомів, подібних до мікро- та макросудинних ускладнень діабету.

Як функціональний показник ендотеліальної дисфункції була використана загальноно відома манжеткова проба Румпель-Леєде-Кончаловського [4]. У контрольній групі вона була негативною: у жодного пацієнта кількість петихій не перевищувала 10 (1 бал). У хворих пробу оцінювали як 2 бали при кількості петихій від 10 до 20; 3 бали – від 21 до 50 та 4 бали – понад 50. Також ми запропонували оригінальний індекс тяжкості хвороби (ITX), який є відношенням сумарної ступені тяжкості діабетичних ускладнень, наявних у пацієнта, до його віку, виражене в умовних одиницях:

$$ITX = (\sum_{i=1}^n \text{СТУ}i) / B * 100 \quad (1),$$

де СТУ – ступені тяжкості діабетичних ускладнень наявних у пацієнта; B – вік пацієнта (років).

У крові біохімічним методом визначали вміст NO (спектрофотометр Specord, Німеччина), імуноферментним – вміст ET1 (“Biomedica Immunoassays”, Австрія; фотометр Multiscan EX, Thermo Electron Corp., Фінляндія). Аналіз поліморфізмів rs6842241 гена EDNRA і rs5351 гена EDNRB (гена локалізація 4q31.22 і 13q22.3 відповідно) проведено методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі в автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500 (“Applied Biosystems”, США). На першому етапі дослідження з цільної венозної крові виділяли геномну ДНК за допомогою стандартних реактивів PureLink® Genomic DNA Kit For Purification of Genomic DNA; виробник “INVITROGEN” (США). Генетичний аналіз здійснено з використанням уніфікованих тест-систем TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США).

Для статистичної обробки отриманих

результатів використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., США). Після проведення тестів Колмогорова-Смірнова, Андерсона-Дарлінга і  $\chi^2$  був встановлений відмінний від нормального характер розподілу варіаційних рядів. У зв'язку з цим для описової статистики кількісних результатів використовували медіану (Me) та перший і третій квантилі (Q1; Q3) варіаційних рядів. Незалежні вибірки порівнювали із застосуванням критеріїв Крускал-Уолліса (H) і Манна-Уїтні (U). Для порівняння категоріальних змінних використовували таблиці сполучення і непараметричний критерій  $\chi^2$  Пірсона. У всіх випадках статистичного оцінювання значення  $P < 0,05$  вважали вірогідними.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Насамперед було встановлено вміст у крові ET1 та NO (як одного з головних чинників ендотеліальної дисфункції, залежного від ET1 [5]). Спостерігалася чітка тенденція до збільшення вмісту ET1: від 0,55 фмоль/мл у контролі до 2,61 фмоль/мл у 3-й групі, причому у всіх групах він статистично значуще перевищував контроль (у 3,7-4,7 раз;  $P < 0,001$ ). Між показниками 2-ї та 3-ї групи достеменною різниці встановлено не було.

Вміст у крові NO також зростав у групах хворих порівняно з контролем (у 1,4-1,5 раз;  $P < 0,001$ ). Найбільшого значення він сягав у 2-й групі – у 1,5 раз ( $P = 2,3e-26$ ). Водночас між 1-ю та 3-ю групами достеменною різниці не було ( $P = 0,581$ ). Отже, можна було вва-

жати, що вміст NO за наявності ЦД2Т збільшувався, що не залежало від тяжкості хвороби.

На наступному етапі була перевірена гіпотеза про вплив ET1 і NO на розвиток ускладнень ЦД2Т. Для цього була виконана серія багатофакторних логістичних регресійних розрахунків з використанням пакета GLZ (StatSoft, Inc., США; табл. 2). Виявлений багаторазовий приріст вмісту ET1 був патогенетичним чинником розвитку всіх ускладнень ЦД2Т (крім макроангіопатії нижніх кінцівок). Накопичення у крові NO сприяло розвитку артеріальної гіпертензії та макроангіопатії нижніх кінцівок.

Численні дані щодо ролі поліморфізмів генів ендотелінових рецепторів у цілій низці судинних захворювань та їх залежність від етнічної приналежності хворих [11-14], дало поштовх до вивчення цього питання у хворих на ЦД2Т з української популяції. Слід відмітити, що за таблицею спряженості (3×3) був показаний зв'язок генотипів rs6842241 гена EDNRA з захворюванням ( $\chi^2 = 6,67$ ;  $P = 0,035$ ). Генотипами ризику виявилися гетерозиготний генотип C/A, який у 1,7 раз підвищував ризик (ВШ=1,73; 95% ВІ 0,95-3,15) та мінорний генотип A/A, який у 1,9 раз підвищував ризик (ВШ=1,90; 95% ВІ 0,77-4,69). Предковий генотип C/C ризик знижував (ВШ=0,49; 95% ВІ 0,28-0,85), що вказувало на його протективний ефект (табл. 3).

Порівняння частот алелей за таблицею спряженості (2×2) показало наявність впливу алельного поліморфізму ( $\chi^2 = 7,68$ ;  $P = 0,005$ ) на ЦД2Т (див. табл. 3). Мінорна алель A

Таблиця 1. Вміст у крові ендотеліну-1 (ET1) і NO у групах пацієнтів (Me [Q1; Q3])

Показники	Контроль (n=95)	1-ша (n=57)	2-га (n=63)	3-тя (n=32)	$P_{(H)}$
ET1, фмоль/мл	0,55 [0,40; 0,75]	2,01 [1,87; 2,29]	2,44 [2,10; 2,80]	2,61 [2,09; 3,05]	<0,001
NO, мкмоль/л	4,35 [4,08; 4,61]	6,00 [5,69; 6,34]	6,69 [6,29; 7,10]	6,06 [5,99; 6,71]	<0,001

Примітки:  $P_{(H)}$  – статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм Крускал-Уолліса (H).

**Таблиця 2. Результати визначення впливу ендотеліну-1 (ЕТ1) і NO на розвиток судинних ускладнень (β-коефіцієнти регресії і статистична значущість їх відмінностей від нульової гіпотези)**

Змінні регресії	β±SE	Wald	P
Нефропатія за швидкістю клубочкової фільтрації			
ЕТ1	2,747±0,555	24,462	7,58e-07
NO	-0,206±0,472	0,190	0,663
Нефропатія за мікроальбумінурією			
ЕТ1	4,468±1,056	17,894	2,34e-05
NO	-0,238±0,910	0,068	0,794
Ретинопатія			
ЕТ1	3,077±0,734	17,568	2,77e-05
NO	-0,762±0,632	1,451	0,228
Полінейропатія			
ЕТ1	1,817±0,753	5,821	0,016
NO	-0,325±0,792	0,168	0,682
Артеріальна гіпертензія			
ЕТ1	1,693±0,463	13,385	2,54e-04
NO	-1,254±0,517	5,894	0,015
Макроангіопатія нижніх кінцівок			
ЕТ1	-9,666±5,247	3,394	0,065
NO	27,548±11,90	5,362	0,021

Примітки: β – коефіцієнт регресії; ±SE – стандартна похибка; β-коефіцієнтів; Wald – показник Wald-статистики; P – значущість відмінності від нульової гіпотези (прийнята, якщо P<0,05).

підвищувала ризик його розвитку у 1,9 раза (ВШ=1,87; 95% ВІ 1,20-2,92), а предкова алель С – знижувала (ВШ=0,53; 95% ВІ 0,34-0,84). Отже, генетичним фактором ризику розвитку ЦД2Т була наявність у генотипі поліморфізму rs6842241 гена EDNRA алелі А.

**Таблиця 3. Розподіл частот (f) генотипів і алелей rs6842241 гена EDNRA і ступінь їх асоціації з цукровим діабетом 2-го типу (ЦД2Т)**

Генотипи і алелі	ЦД2Т, f	Контроль, f	χ <sup>2</sup>	P	ВШ	95% ВІ
Генотипи						
С/С	0,553	0,716	6,67	0,035	0,49	0,28-0,85
С/А	0,316	0,210			1,73	0,95-3,15
А/А	0,131	0,074			1,90	0,77-4,69
Алелі						
С	0,711	0,821	7,68	0,005	0,53	0,34-0,84
А	0,289	0,179			1,87	1,20-2,92

Примітки: тут і в табл 4; f – частота; χ<sup>2</sup> – критерій Пірсона; P – статистична значущість розбіжностей між групами; ВШ – відношення шансів; 95% ВІ – 95%-й вірогідний інтервал для ВШ.

Аналіз впливу генотипів поліморфізмів rs5351 гена EDNRB (табл. 4) показав відсутність їх асоціації з ЦД2Т ( $\chi^2=5,30$ ;  $P=0,071$ ).

**Таблиця 4. Розподіл частот (f) генотипів і алелей rs5351 гена EDNRB і ступінь їх асоціації з цукровим діабетом 2-го типу (ЦД2Т)**

Генотипи і алелі	ЦД2Т, f	Контроль, f	$\chi^2$	P	ВШ	95% ВІ
<b>Генотипи</b>						
С/С	0,474	0,337	5,30	0,071	1,77	1,04-3,01
С/Т	0,447	0,526			0,73	0,44-1,22
Т/Т	0,079	0,137			0,54	0,24-1,24
<b>Алелі</b>						
С	0,697	0,600	4,94	0,026	1,54	1,05-2,25
Т	0,303	0,400			0,65	0,45-0,95

На відміну від цього, порівняння частот алелей rs5351 показало наявність впливу алельного поліморфізму ( $\chi^2=4,94$ ;  $P=0,026$ ) на ЦД2Т. Предкова алель С підвищувала ризик його розвитку у 1,5 раза (ВШ=1,54; 95% ВІ 1,05-2,25), тоді як мінорна алель Т – знижувала (ВШ=0,65; 95% ВІ 0,45-0,95). Такий результат був не досить звичайним, оскільки, як показували наші попередні дослідження, мінорні алелі зазвичай і були алелями ризику розвитку ЦД2Т та його ускладнень [15,16]. Зв'язок предкової алелі С з розвитком захворювання вказував на протективний ефект саме мутації rs5351 та потребував подальшого дослідження. З нашої точки зору, враховуючи, що роль цього рецептора проявляється за умов фізіологічних концентрації ET1, в умовах його надмірного синтезу за умов діабету мутантна алель Т гена EDNRB може сприяти

меншій експресії ET1, тобто – обмеженню його патологічного ефекту.

Таким чином, було встановлено, що досліджені поліморфізми мали зв'язок з розвитком ЦД2Т. Для rs6842241 гена EDNRA був значущим вплив на розвиток захворювання генотипів з мінорною алеллю А; для rs5351 гена EDNRB алеллю ризику виявилася предкова алель С.

Логічним надалі виявлявся пошук зв'язку поліморфізмів генів рецепторів ендотеліну з вмістом у крові ET1 (табл. 5), NO, а також – з показниками манжеткової проби (табл. 6). Як і можна було очікувати, за наявністю алелей ризику А rs6842241 і С rs5351 вміст ET1 був достеменно вищим, на 10,9 % ( $P=5,6e-0,6$ ) та 15,4 % ( $P=1,0e-05$ ) відповідно. Такі результати підтвердили патогенетичний зв'язок ризикових алелей з підвищенням вмісту у крові основного

**Таблиця 5. Вплив алелей на вміст ендотеліну-1, фмоль/мл (Ме [Q1; Q3])**

Поліморфізми	Алелі		U	P
rs6842241 гена EDNRA	С (n=216) 2,20 [1,93; 2,51]	А (n=88) 2,44 [2,10; 2,85]	6704	5,6e-06
rs5351 гена EDNRB	С (n=212) 2,32 [2,02; 2,68]	Т (n=92) 2,01 [1,87; 2,44]	6636	1,0e-05

Примітки: U – критерій Манна-Уїтні; P – статистична значущість розбіжностей показників

Таблиця 6. Вплив алелей на результати манжеткової проби Румпель-Лесде-Кончаловського, n (f)

Алелі	Кількість балів				$\chi^2$	P
	1 бал	2 бали	3 бали	4 бали		
rs6842241 EDNRA						
C	24 (0,923)	67 (0,728)	73 (0,689)	52 (0,650)	7,52	0,045
A	2 (0,077)	25 (0,272)	33 (0,311)	28 (0,350)		
rs5351 EDNRB						
C	13 (0,500)	66 (0,609)	79 (0,745)	64 (0,800)	13,37	0,004
T	13 (0,500)	36 (0,391)	27 (0,255)	16 (0,200)		

Примітки: n – кількість хворих, f – частота хворих з відповідним балом; P – статистична значущість розбіжностей між показниками.

чиннику ендотеліальної дисфункції – ET1. На вміст у крові NO вивчені поліморфізми впливу не мали (P=0,408 і P=0,367 відповідно).

Слід відмітити, що статистично значущий вплив на частоту хворих з різним балом мали обидва поліморфізми: для rs6842241  $\chi^2=7,52$  (P=0,045) і для rs5351  $\chi^2=13,37$  (P=0,004). В обох випадках спостерігалася аналогічна тенденція: частота хворих з високим балом поступово збільшувалася у носіїв ризикових алелей: для носіїв алелі A rs6842241 – з 0,077 у хворих з 1 балом до 0,350 у хворих з 4 балами; для носіїв алелі C rs5351 – з 0,500 до 0,800 відповідно. На нашу думку, це безпосередньо підтверджувало патогенну роль ризикових алелей генетичних поліморфізмів rs6842241 і rs5351 для розвитку ендотеліальної дисфункції.

Надалі було проаналізовано вплив поліморфізмів на розвиток судинних ускладнень ЦД2Т (діабетичної ретино- та нефропатії, сенсорної полінейропатії, артеріальної гіпертензії та макроангіопатії нижніх кінцівок). Статистично значущий вплив поліморфізм rs6842241 мав на наявність артеріальної гіпертензії ( $\chi^2=61,33$ ; P<0,001), частота якої у носіїв алелі ризику A була у 2,5 раза частішою, ніж у носіїв предкової алелі C (0,818 щодо 0,324 відповідно). На інші ускладнення розподіл алелей цього поліморфізму впливу не мав. Для rs5351 гена EDNRB вірогідний вплив був визначений для розвитку сенсорної полінейропатії

( $\chi^2=7,54$ ; P=0,006), нефропатії за показниками швидкості клубочкової фільтрації ( $\chi^2=25,48$ ; P<0,001) і за рівнем мікроальбумінурії ( $\chi^2=32,27$ ; P<0,001), на інші ускладнення розподіл алелей впливу не мав. За наявності алелі C перелічені ускладнення виявлялися достеменно частіше, ніж – міноної алелі T (0,915 проти 0,804; 0,608 щодо 0,293 і 0,915 щодо 0,652 відповідно).

Таким чином, алель ризику C rs6842241 гена EDNRA суттєво підвищувала частоту розвитку артеріальної гіпертензії, а алель ризику C rs5351 гена EDNRB – частоту розвитку полінейропатії і нефропатії (P<0,001).

Серед таких клінічних показників, як вік, тривалість захворювання, індекс маси тіла, систолічний і діастолічний артеріальний тиск та ІТХ (розрахований за формулою 1) алель ризику A rs6842241 достеменно сприяв більшим величинам індексу маси тіла (на 9,4 %), систолічного (на 19,2 %) і діастолічного тиску (на 12,5 %) та ІТХ (на 35,2 %) порівняно з алеллю C (P<0,001). Цим і міг пояснюватися зв'язок поліморфізму з розвитком артеріальної гіпертензії. Також було встановлено, що у носіїв генотипу ризику A/A rs6842241 були виявлені значно вищі значення вмісту у крові ліпопротеїдів низької щільності: на 145 % порівняно з носіями гетерозиготного генотипу C/A та – на 47,9 % порівняно з носіями предкового генотипу C/C (P=0,037). У носіїв алелі ризику A значно вище був вміст у крові

тригліцеридів (на 40,6 %), ніж у носіїв алелі С ( $P=0,033$ ). Такий зв'язок з маркерами порушення жирового обміну висвітлював й можливість атерогенну дію поліморфізму rs6842241 гена EDNRA.

Алель ризику С rs5351 був достеменно пов'язаний з більшою тривалістю захворювання (носії цієї алелі хворіли на 3 роки довше, ніж носії алелі Т;  $P=0,006$ ) та мали більше значення ІТХ (на 44,4 %;  $P<0,001$ ). Також у носіїв цієї алелі був виявлений значно більший вміст у крові сечовини (на 5,6 %;  $P=0,044$ ), креатиніну (на 7,6 %;  $P=0,018$ ), мікроальбумінурії (на 37,0 %;  $P<0,001$ ) та менший рівень швидкості клубочкової фільтрації (на 16,0 %;  $P<0,001$ ), ніж у носіїв алелі Т. Такі результати пояснювали зв'язок цього поліморфізму із розвитком нефропатії у хворих на ЦД2Т.

Іспанські дослідники [11] встановили, що деякі поліморфізми в системі генів ендотелінових рецепторів можуть бути пов'язані з ожирінням. Це було підтверджено відносно поліморфізму rs5351 гена EDNRB, який сприяв зниженню ризику ожиріння. У наших дослідженнях, цей поліморфізм не мав зв'язку з індексом маси тіла та показниками жирового обміну (на відміну від поліморфізму rs6842241 гена EDNRA).

Таким чином, проведене дослідження висвітлює патогенетичну роль ET1 та поліморфізмів його рецепторів, які були асоційовані з більшою експресією гормону. Через безпосередній вплив на клініко-лабораторні показники та розвиток ускладнень у хворих на ЦД2Т поліморфізми rs6842241 гена EDNRA (алель ризику – мінорна алель А) та rs5351 гена EDNRB (алель ризику – предкова алель С) погіршували тяжкість хвороби та сприяли прогресуванню ендотеліальної дисфункції.

## ВИСНОВКИ

1. Доведено зв'язок підвищення вмісту ET1 та NO у крові хворих на ЦД2Т із прогресуванням захворювання. Багаторазовий приріст вмісту

у крові ET1 був патогенетичним чинником розвитку всіх ускладнень (крім макроангіопатії нижніх кінцівок), а накопичення у крові NO сприяло розвитку артеріальної гіпертензії та макроангіопатії нижніх кінцівок.

2. Поліморфізми генів ендотелінових рецепторів мали зв'язок з розвитком ЦД2Т: для rs6842241 гена EDNRA підвищення ризику було асоційовано з мінорною алеллю А; для rs5351 гена EDNRB – з предковою алеллю С. Наявність цих алелей сприяло достеменно більш високому вмісту у крові ET1 та більшій вираженості ендотеліальної дисфункції за результатами манжеткової проби Румпель-Леєде-Кончаловського.

3. Поліморфізми генів ендотелінових рецепторів мали значення для розвитку ускладнень ЦД2Т: rs6842241 – для артеріальної гіпертензії, а rs5351 – сенсорної полінейропатії і нефропатії. При цьому алель ризику А rs6842241 сприяв більшим значенням індексу маси тіла, систолічного і діастолічного тиску, ІТХ та вмісту у крові тригліцеридів порівняно з алеллю С. Носії алелі ризику С rs5351 хворіли на 3 роки довше, ніж носії алелі Т, та мали більший ІТХ; у них був більший вміст у крові сечовини і креатиніну, рівень мікроальбумінурії та менша швидкість клубочкової фільтрації, ніж у носіїв алелі Т.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

**С.В. Зяблицев, А.П. Чернобривцев,  
Д.С. Зяблицев, А.А. Стародубская, Ц.Б. Абрахимова**

## **ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЭНДОТЕЛИНА-1 И ПОЛИМОРФИЗМА ЕГО РЕЦЕПТОРОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА**

Целью исследования было определение патогенетической роли эндотелина-1 (ЭТ1) и связи полиморфизмов

rs6842241 гена EDNRA и rs5351 гена EDNRB с сахарным диабетом 2-го типа (СД2Т) и его осложнениями в когорте украинских больных. Обследовано 152 больных в возрасте 53,9±8,4 лет и 95 человек контрольной группы. Генетические полиморфизмы определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology; США). Было показано наличие связи повышенного содержания в крови ЭТ1 (в 3,7-4,7 раза) и NO (в 1,4-1,5 раза) с прогрессированием заболевания. Приrost содержания ЭТ1 был связан с развитием ретино-, нефропатии, определенной по микроальбуминурии и по скорости клубочковой фильтрации, сенсорной полинейропатии и артериальной гипертензии, а NO – с артериальной гипертензией и макроангиопатией нижних конечностей. Полиморфизмы генов эндотелиновых рецепторов имели связь с развитием СД2Т: для rs6842241 повышение риска было ассоциировано с минорной аллелью А (отношение шансов 1,87; 95% доверительный интервал 1,20-2,92; P=0,005), для rs5351 – с предковой аллелью С (отношение шансов 1,54; 95% доверительный интервал 1,05-2,25; P=0,026). Наличие этих аллелей было ассоциировано с более высоким содержанием в крови ЭТ1. Аллель риска А rs6842241 способствовала большим значениям индекса массы тела, систолического и диастолического давления и содержания в крови триглицеридов по сравнению с аллелью С. Носители аллели риска С rs5351 болели на три года дольше, у них были более высокие содержание в крови мочевины и креатинина, уровень микроальбуминурии, а также меньшая скорость клубочковой фильтрации, чем у носителей аллели Т. Таким образом, непосредственно влияя на клинико-лабораторные показатели и развитие осложнений, rs6842241 и rs5351 генов эндотелиновых рецепторов усугубляли тяжесть СД2Т.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа; осложнения; эндотелин-1; полиморфизмы rs6842241 гена EDNRA и rs5351 гена EDNRB.

**S.V. Ziablytsev<sup>1</sup>, O.P. Chernobrytsev<sup>1</sup>,  
D.S. Ziablytsev<sup>2</sup>, O.O. Starodubska<sup>1</sup>,  
Ts.B. Abdriakhimova<sup>1</sup>**

## **PATHOGENETIC ROLE OF ENDOTELIN-1 AND POLYMORPHISM OF ITS RECEPTORS IN DIABETES MELLITUS TYPE 2**

The aim of the study was to determine the pathogenetic role of endothelin-1 (ET1) and the connection of the rs6842241 polymorphisms of the EDNRA gene and rs5351 of the EDNRB gene with diabetes mellitus type 2 (DM2T) and its complications in the cohort of Ukrainian patients. Surveyed 152 patients aged 53.9±8.4 years and 95 people in the control group. Genetic polymorphisms were determined by real-time polymerase chain reaction (TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology; USA). The presence of an association of elevated blood levels of ET1 (3.7-4.7 times) and NO

(1.4-1.5 times) with disease progression has been shown. The increase in ET1 level was associated with the development of retinopathy, nephropathy, determined by microalbuminuria and glomerular filtration rate, sensory polyneuropathy and arterial hypertension, and NO – with arterial hypertension and lower limb macroangiopathy. Endothelin receptor gene polymorphisms were associated with the development of DM2T: for rs6842241, an increased risk was associated with a minor allele A (odds ratio 1.87; 95% confidence interval 1.20-2.92; P=0.005), for rs5351 with ancestral allele C (odds ratio 1.54; 95% confidence interval 1.05-2.25; P=0.026). The presence of these alleles was associated with a higher blood level of ET1. Risk A allele rs6842241 contributed to higher body mass index, systolic and diastolic pressure and triglyceride level in blood compared to allele C. Carriers of rs5351 risk allele C were ill for three years longer, they had higher blood levels of urea and creatinine, microalbuminuria, as well as a lower glomerular filtration rate than T allele carriers. Thus, directly influencing the clinical and laboratory parameters and the development of complications, the rs6842241 and rs5351 endothelin receptor genes reduced the severity of DM2T.

Key words: diabetes mellitus type 2; complications; endothelin-1; rs6842241 EDNRA gene and rs5351 EDNRB gene.

<sup>1</sup>*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;*

<sup>2</sup>*Private Higher Education Establishment Kyiv Medical University*

## **REFERENCES**

1. Pankiv VI. Diabetes mellitus: diagnostic criteria, etiology and pathogenesis. *Int Endocrinol J.* 2013;8(56):53-64. [Ukrainian].
2. Type 2 Diabetes Complications. [Internet]. Available from: <https://www.endocrineweb.com/conditions/type-2-diabetes/type-2-diabetes-complications>.
3. Pi X, Xie L, Patterson C. Emerging roles of vascular endothelium in metabolic homeostasis. *Circ Res.* 2018 Aug;123(4):477-94. doi: 10.1161/CIRCRESA-HA.118.313237.
4. Sinyachenko OV, Ziablytsev SV, Chernobrytsev PA. Endothelial dysfunction in glomerulonephritis. *Donetsk: New World; 2006.* [Russian].
5. Zanatta CM, Crispim D, Sortica DA, Klassmann LP, Gross JL, Gerchman F, Canani LH. Endothelin-1 gene polymorphisms and diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr.* 2015 Nov 19;7:103. doi: 10.1186/s13098-015-0093-5.
6. Li W, Abdul Y, Ward R, Ergul A. Endothelin and diabetic complications: a brain-centric view. *Physiol Res.* 2018 Jun 27;67(Supplementum 1):S83-S94.
7. Bregar D, Cilenšek I, Mankoč S, Reschner A, Petrovič D, Globočnik Petrovič M. The joint effect of the endothelin receptor B gene (EDNRB) polymorphism rs10507875 and nitric oxide synthase 3 gene (NOS3) polymorphism rs869109213 in Slovenian patients with type 2 diabetes



- mellitus and diabetic retinopathy. *Bosn J Basic Med Sci.* 2018 Feb 20;18(1):80-6. doi: 10.17305/bjbms.2017.2244.
8. Georgianos PI, Agarwal R. Endothelin A receptor antagonists in diabetic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2017 Sep;26(5):338-44. doi: 10.1097/MNH.0000000000000342.
  9. IDF Diabetes Atlas Eighth Edition [Internet]; 2017:149. Available from: <http://www.diabetesatlas.org/>.
  10. On approval and implementation of medical-technological documents for the standardization of medical aid in type 2 diabetes. Unified clinical protocol for primary and secondary (specialized) medical aid "Diabetes type 2". Order of the Ministry of Health of Ukraine: Kyiv;2012 Dec 21;1118. [Ukrainian].
  11. Martínez-Barquero V, de Marco G, Martínez-Hervas S, Rentero P, Galan-Chilet I, Blesa S, Morchon D. et al. Polymorphisms in endothelin system genes, arsenic levels and obesity risk. *PLoS One.* 2015 Mar 23;10(3):e0118471. doi: 10.1371/journal.pone.0118471.
  12. Dubovyk YI, Oleshko TB, Harbuzova VY, Ataman AV. Positive association between EDN1 rs5370 (Lys198Asn) polymorphism and large artery stroke in a Ukrainian population. *Dis Markers.* 2018 Apr 3;2018:1695782. doi: 10.1155/2018/1695782.
  13. Park K, Mima A, Li Q, Rask-Madsen C, He P, Mizutani K, Katagiri S. et al. Insulin decreases atherosclerosis by inducing endothelin receptor B expression. *JCI Insight.* 2016 May 5;1(6). pii: e86574.
  14. Rautureau Y, Coelho SC, Fraulob-Aquino JC, Huo KG, Rehman A, Offermanns S, Paradis P, Schiffrin EL. Inducible human endothelin-1 overexpression in endothelium raises blood pressure via endothelin type A receptors. *Hypertension.* 2015 Aug;66(2):347-55. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05168.
  15. Mogilevskyy Slu, Bushuieva OV, Ziablitsev SV, Natrus LV. Relationship of the AKR1B1 rs759853 and rs9640883 with the development of diabetic retinopathy. *J.Ophthalmol.* 2017;2:3-7. [Ukrainian] <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh2017237>.
  16. Hudz AS, Zakharevych GIe, Pentrenko OV, Ziablitsev SV, Dzhordzhua VS. Relationships of vascular endothelial growth factor (VEGFA) with stage of diabetic retinopathy and disease duration in patients with type 2 diabetes mellitus. *J.Ophthalmol.* 2017;6:11-6.[Ukrainian] <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh2018/2/1116>.

*Матеріал надійшов до редакції 10.12.2018*