

УДК 616.248+616.379-008.64]:575.174.015.3

## АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЛЕПТИНА (G2548A) У ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАНИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

Пашкевич А.В., Серебрякова О.В.

*ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия Минздрава России», Чита, e-mail: pashkevichalex@mail.ru*

**Цель исследования:** провести анализ частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма лептина (G2548A) у пациентов с сочетанием бронхиальной астмы и сахарного диабета 2-го типа. В исследование включались пациенты с бронхиальной астмой и сахарным диабетом 2-го типа, разделенные на 3 группы для проведения сравнительного анализа, в каждой группе по 80 человек. Во всех группах были проведены клиническое обследование, молекулярно-генетический анализ полиморфизма лептина (G2548A) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для анализа данных использовались непараметрические методы статистики. У пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и сопутствующим диагнозом бронхиальной астмы имеет место высокая частота встречаемости G-аллеля полиморфизма лептина (G2548A) при сравнении с пациентами с изолированным сахарным диабетом 2-го типа и бронхиальной астмой. G-аллель полиморфизма лептина (G2548A) связан с более высокой частотой развития сахарного диабета 2-го типа у больных бронхиальной астмой. Анализ полиморфизма лептина (G2548A) может помочь выявить пациентов с бронхиальной астмой, у которых повышен риск развития сахарного диабета 2-го типа.

**Ключевые слова:** лептин, полиморфизм LEP (G2548A), сахарный диабет 2-го типа, бронхиальная астма, коморбидность.

## ANALYSIS OF GENETIC POLYMORPHISM OF LEPTIN (G2548A) IN PATIENTS WITH A COMBINATION OF ASTHMA AND DIABETES TYPE 2

Pashkevich A.V., Serebryakova O.V.

*FGBOU VO «Chita State Medical Academy Ministry of Health of Russia», Chita, e-mail: pashkevichalex@mail.ru*

**The aim of the research.** We aimed to study the frequency of occurrence of alleles and genotypes of polymorphism leptin (G2548A) in patients with a combination of asthma and diabetes type 2. The study included patients with asthma and diabetes type 2, divided into 3 groups for comparative analysis, 80 people in each group. Clinical examination, molecular genetic analysis of polymorphism leptin (G2548A) by PCR using kits for determining polymorphisms in the human genome were performed in all groups. Nonparametric statistical methods were used to analyze the data. The frequency of occurrence of G-alleles of LEP (G2548A) polymorphism in patients with a combination of asthma and diabetes type 2 is higher than patients with isolated asthma and isolated diabetes type 2. The presence of the G-allele of LEP (G2548A) polymorphism is associated with a higher incidence of diabetes type 2 in patients with asthma. Analysis of leptin LEP (G2548A) can help identify patients with asthma who have an increased risk of developing diabetes type 2.

**Keywords:** asthma, diabetes type 2, leptin, polymorphism LEP (G2548A), comorbidity.

Бронхиальная астма (БА) и сахарный диабет 2-го типа (СД2) в настоящее время являются важными проблемами мирового здравоохранения [1]. Заболеваемость БА и СД2 продолжает расти как в мире, так и в России, что ведет к увеличению их распространенности, высокой инвалидизации и смертности населения [1, 2]. Также увеличивается количество пациентов с сочетанием данных заболеваний. С января 2023 года по октябрь 2023 года в ГУЗ «Краевая клиническая больница» города Читы в отделение пульмонологии были госпитализированы 205 пациентов с бронхиальной астмой, из них 78 пациентов (38%) также имели диагноз СД2. Исследование мультиморбидности является актуальным направлением в

современной медицине. Клиническое понимание этого вопроса указывает на то, что все коморбидные заболевания влияют на течение и исход друг друга, хотя степень этого взаимодействия может быть различной и требует всестороннего изучения. Сопутствующие заболевания модифицируют течение бронхиальной астмы, усиливают ее тяжесть и ухудшают прогноз [3]. Представляет интерес патофизиологический механизм взаимосвязи бронхиальной астмы и сахарного диабета. Экспериментальные исследования показывают, что гиперинсулинемия, связанная с резистентностью к инсулину, также связана и с пролиферацией гладкой мускулатуры дыхательных путей, что приводит к ее усиленной сократительной способности, утяжеляющей бронхиальную обструкцию [4]. Эпидемиологические исследования последних лет выявили более высокую распространенность гликемической дисфункции среди лиц с тяжелой и неконтролируемой бронхиальной астмой, другие исследования связывают преддиабет и сахарный диабет с более высоким риском обострений бронхиальной астмы [4]. Появляющиеся литературные данные свидетельствуют, что нарушения метаболизма глюкозы могут быть связаны с обострением бронхиальной астмы [4]. Однако эти состояния возникают в рамках метаболического синдрома, который сам по себе может усугубить течение бронхиальной астмы. Необходимы дополнительные исследования, чтобы определить потенциальное независимое влияние нарушений метаболизма глюкозы при бронхиальной астме. При анализе научных данных о связи между СД2 и БА и механизмах, объясняющих эту связь, и ее влиянии на контроль бронхиальной астмы выявлено, что нарушения гликемии и диабетическая микроангиопатия были определены как важные характеристики потери контроля над бронхиальной астмой, связанные с сахарным диабетом 2-го типа [5]. Гипергликемия, сопровождающая системное лечение кортикостероидами, затрудняет восстановление после обострения бронхиальной астмы, требующего госпитализации, и приводит к продлению срока пребывания в стационаре, по сравнению с пациентами, у которых нет нарушений метаболизма глюкозы в анамнезе [5]. Предполагается, что сочетание СД2 и БА может нарушить гликемический контроль, способствуя неблагоприятному течению обострения бронхиальной астмы и увеличению продолжительности госпитализации [5]. Не стоит также забывать, что обширные микрососудистые осложнения, в том числе и легочные микроангиопатии, особенно у взрослых с прогрессирующим сахарным диабетом, способствуют увеличению смертности от респираторных заболеваний у взрослых с сахарным диабетом. Именно поэтому изучение различных патогенетических звеньев взаимосвязи бронхиальной астмы и сахарного диабета 2-го типа является определенно важным.

В этом аспекте особый научный интерес представляет влияние лептина на патогенез БА и СД2. По анализу литературных данных установлено, что лептин участвует в

патогенетических механизмах при БА. Лептин может индуцировать воспаление при бронхиальной астме путем активации Th2-клеток. Также доказано, что экспрессия лептина увеличивается при хроническом воспалении в дыхательных путях, а у пациентов с бронхиальной астмой наблюдается повышенный уровень лептина в сыворотке крови, следовательно, возможно влияние полиморфизма в генах лептина на его уровень в сыворотке крови. Лептин выполняет свою биологическую функцию через специфический трансмембранный рецептор в гипоталамусе. Этот рецептор также присутствует на поверхности структурных клеток эпителия, гладких мышц, фибробластов в легких [6]. З.Г. Ахмедова и соавторы в своей работе сделали вывод, что на развитие сахарного диабета 2-го типа влияет совокупность генов, также оказывающих влияние на инсулинорезистентность, адипогенез, одним из которых является ген лептина, который участвует в различных этапах метаболизма углеводов и жиров [7]. Учитывая участие лептина в патогенезе как БА, так и СД2, представляет научный интерес изучение полиморфизма его гена.

Цель исследования: изучить частоту встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма лептина (G2548A) у пациентов с сочетанием бронхиальной астмы и сахарного диабета 2-го типа.

#### **Материалы и методы исследования**

В исследовании принимали участие пациенты, госпитализированные в ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы, разделенные на три группы для проведения сравнительного анализа. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России в 2021 году. Критерии включения пациентов в исследование: пациенты европеоидной расы, постоянно проживающие на территории Забайкальского края, диагноз БА, установленный пульмонологом согласно глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы (2023 год) [1]; диагноз СД2, установленный эндокринологом в соответствии с алгоритмами специализированной медицинской помощи больным СД2 (2023 год) [8]; возраст пациентов в диапазоне от 40 до 60 лет со стажем заболевания более 5 лет, подписанное добровольное информированное согласие. Критерии исключения из исследования: обострение БА, декомпенсация СД2, применение системных глюкокортикоидов, курение, декомпенсация сердечно-сосудистых заболеваний, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) в анамнезе, индекс массы тела пациента больше 35 кг/м<sup>2</sup>, отказ пациента от участия в исследовании. В исследовании участвовали 240 пациентов, включая 119 мужчин (49%) и 121 женщину (51%) в возрасте от 46 до 60 лет. Медиана возраста пациентов составила 51 [47; 58] год. В первую группу, объединяющую пациентов с сочетанием БА и СД2, вошли 80 человек. Среди них 41 мужчина (51%) и 39 женщин (49%). Медиана возраста в этой группе составила 50 [47; 56] лет. Индекс массы тела (ИМТ) составил

29,54 кг/м<sup>2</sup> [25,41; 32,16]. Во вторую группу, включающую пациентов с изолированной БА, также вошли 80 человек, среди которых было 38 мужчин (48%) и 42 женщины (52%). Медиана возраста в этой группе составила 52 [48; 59] года. ИМТ составил 28,44 кг/м<sup>2</sup> [24,12; 31,73]. В третью группу, включающую пациентов с изолированным СД2, также вошли 80 человек, среди которых было 40 мужчин (50%) и 40 женщин (50%). Медиана возраста в этой группе составила 53 [47; 59] года. ИМТ составил 29,92 кг/м<sup>2</sup> [26,73; 33,72]. Все группы в исследовании были сопоставимы по возрасту и полу ( $p < 0,05$ ). В первой группе у 49 человек (61%) отмечалось тяжелое течение бронхиальной астмы, а у 31 человека (39%) – течение средней тяжести. Во второй группе у 32 человек (40%) отмечалось тяжелое течение бронхиальной астмы, а у 48 человек (60%) – течение средней тяжести. 50 (27%) пациентов с СД2 принимали метформин в дозировке 1000 мг 2 раза в сутки, а 120 (73%) принимали комбинацию алоглиптина и метформина в дозировке 12,5 мг и 1000 мг 2 раза в сутки. 25 (16%) пациентов с бронхиальной астмой в качестве базисной терапии применяли ингаляционные глюкокортикостероиды, а 135 (84%) пациентов использовали комбинацию ингаляционных глюкокортикостероидов и длительно действующих  $\beta_2$ -агонистов.

Все группы пациентов проходили общее медицинское обследование, включающее сбор жалоб, оценку анамнеза заболевания и анализ медицинской документации (включая историю болезни стационарного больного). Для генетического анализа использовались образцы ДНК, выделенные из периферической венозной крови. Для исследования выбран полиморфизм лептина (G2548A). Анализ полиморфизма гена осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора для определения полиморфизмов в геноме человека НПФ «Литех» (Москва). Определение полиморфизмов проводилось в лаборатории молекулярной генетики ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы IBM SPSS Statistics. При сравнении частот аллелей и генотипов по качественному бинарному признаку применялся критерий  $\chi^2$ . Отношение шанса события в одной группе к шансу события в другой группе оценивалось по величине отношения шансов (OR) с расчетом 95%-ного доверительного интервала (CI95%). Для оценки связи полиморфизма с развитием заболевания использовали общую и мультипликативную модели наследования, основываясь на соответствии распределения аллелей равновесию Харди–Вайнберга. Статистически значимыми различия считались при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** Геномная информация полиморфизма лептина (G2548A) распределилась следующим образом: AA-генотип – 68 человек (28%), GA-генотип – 62 человека (24%), GG-генотип – 110 человек (46%), аллель G – 63% ( $n=168$ ), аллель

А – 37% (n=95), что соответствует равновесию Харди–Вайнберга ( $\chi^2=1,07$ ,  $p=0,0204$ ).  
 Распределение генетической информации по исследуемым группам представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распространённость генотипов и аллелей полиморфизма лептина (G2548A)  
 в исследуемых группах

Генотип /Аллель	1-я группа – сочетание БА и СД2 (n=80)	2-я группа – изолированная БА (n=80)	3-я группа – изолированный СД2 (n=80)	$\chi^2$ ; p
GG	0,204	0,308	0,101	$\chi^2 = 8,04$ $p = 0,018$
GA	0,548	0,207	0,245	
AA	0,209	0,097	0,303	
G	0,606	0,572	0,356	$\chi^2 = 7,12$ $p = 0,021$
A	0,201	0,105	0,241	
<b>Соответствие равновесию Харди– Вайнберга</b>	$\chi^2=2,71$ $p=0,018$	$\chi^2=1,09$ $p=0,12$	$\chi^2=0,009$ $p=0,543$	

Выявлено, что исследуемые группы различаются по распределению аллелей и по распределению отдельных генотипов. При сравнении группы с сочетанием БА и СД2 и групп с изолированными БА и СД2 было обнаружено увеличение частоты встречаемости G-аллеля ( $\chi^2 2,71$ ,  $p=0,0018$ ). Исходя из полученных данных о распределении частот, выявлено, что G-аллель полиморфизма гена лептина G2548A увеличивает вероятность развития коморбидности бронхиальной астмы и сахарного диабета 2-го типа в 2,6 раза по сравнению с изолированной БА и изолированным СД2 (OR=2,67, 95% CI: 0,99 – 3,41).

Для оценки влияния полиморфизма лептина G2548A на течение БА больные распределены на группы по степеням тяжести бронхиальной астмы. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние полиморфизма LEP (G2548A) на степень тяжести бронхиальной астмы

Степень тяжести	Генотип	Аллель	Соответствие
-----------------	---------	--------	--------------

<b>БА</b>	<b>GG</b>	<b>GA</b>	<b>AA</b>	<b>G</b>	<b>A</b>	<b>равновесию Харди– Вайнберга</b>
Средней степени	0,351	0,201	0,347	0,246	0,267	$\chi^2=0,18,$ $p=0,34$
Тяжелой степени	0,134	0,278	0,422	0,582	0,326	$\chi^2=0,23,$ $p=0,58$
<b><math>\chi^2; p</math></b>	$\chi^2=1,38$ $p=0,578$			$\chi^2=2,32$ $p=0,93$		

Не установлено статистически значимого влияния определяемой генетической информации полиморфизма гена лептина G2548A на тяжесть бронхиальной астмы.

В настоящее время проводится не так много исследований взаимосвязи между полиморфизмами гена лептина и различными заболеваниями, включая сахарный диабет 2-го типа. L.A. Ali и соавторы в своем исследовании на малазийской популяции выявили значительную связь между полиморфизмом G2548A среди пациентов с СД2 [9]. Более того, L.A. Ali установил, что частота аллеля А варианта G2548A значительно повышала риск развития СД2 и в значительной степени ассоциировалась с повышением уровня сывороточного лептина, инсулина [9]. В. Dagdan в своем исследовании на монгольской популяции выявил, что носители аллеля AA гена лептина имели повышенную частоту метаболического синдрома (OR=3,23;  $p=0,035$ ), а носители аллеля А гена G2548A имели повышенную концентрацию сывороточного лептина ( $p=0,011$ ), что привело к выводу, что локус LEP G2548A является независимым фактором риска развития метаболического синдрома [10]. Следует отметить, что исследование влияния лептина на патогенез бронхиальной астмы требует проведения дополнительных исследований. Лептин как регулятор иммунного ответа вовлечен в патогенез бронхиальной астмы. Yang Wang и соавторы проводили когортное исследование, подтверждающее связь между лептином и БА. Yang Wang в своей работе описывает, что лептин участвует в патофизиологических и клеточных механизмах развития БА. Исследования, связанные с клеточными иммунными реакциями на животных, позволили получить важное представление о роли лептина при БА. Эпидемиологические исследования демонстрировали корреляцию лептина с развитием астмы с некоторых точек зрения, подтверждающую провоспалительную роль лептина при бронхиальной астме [11]. Lei Zhang в своем проведенном метаанализе выявил, что в общей исследуемой популяции диагноз бронхиальной астмы был связан с более высокими уровнями лептина (95% ДИ 0,416–1,318,  $p<0,001$ ) и более низкими уровнями адипонектина (95% ДИ от

-0,728 до -0,014,  $p=0,042$ ) у пациентов с бронхиальной астмой по сравнению с контрольной группой. Анализ групп показал, что более высокие уровни лептина были связаны с бронхиальной астмой как у взрослых, так и у детей [12]. Nour Ali Assad в своей работе описывает, что лептин и адипонектин и их соответствующие рецепторы экспрессируются в легких человека. Связь между системным лептином (или лептином дыхательных путей) и бронхиальной астмой у людей в настоящее время является не до конца изученной. Однако большинство данных, полученных среди детей, свидетельствуют о том, что системный лептин может быть связан с возникновением и тяжестью астмы, особенно среди детей препубертатного возраста. Концентрация системного лептина и лептина в дыхательных путях также может быть непропорционально выше у пациентов с ХОБЛ, особенно среди женщин, и отражать воспаление дыхательных путей и тяжесть заболевания [13]. Также есть работы, в которых описывается, что высокие концентрации лептина в сыворотке крови также могут быть связаны с бронхиальной астмой и у взрослых. A. Sood и соавторы в своем большом перекрестном исследовании, включавшем более 5 тысяч пациентов, выяснили, что у пациентов с бронхиальной астмой средняя нескорректированная концентрация лептина была выше, чем у пациентов без бронхиальной астмы ((SE) 9,2 (0,6) мкг/л против 7,6 (0,2) мкг/л;  $p=0,02$ ) [14]. Li Zhen и другие соавторы в своей работе указывают, что концентрация лептина частично опосредует тяжесть течения бронхиальной астмы путем утяжеления течения астмы, что может быть интерпретировано как влияние лептина на течение бронхиальной астмы [15]. В иностранной литературе не удалось найти результатов исследования полиморфизма гена лептина у пациентов с бронхиальной астмой. Также, несмотря на высокую частоту сочетанной патологии дыхательной и эндокринной систем, в зарубежной и отечественной литературе существует нехватка данных о полиморфизме гена лептина при сочетанном течении БА и СД2. В связи с большой распространенностью сахарного диабета 2-го типа и бронхиальной астмы изучение ассоциации генетического полиморфизма лептина в аспекте мультиморбидности является наиболее актуальным и требует дальнейшего исследования на больших выборках и среди других популяций.

**Заключение.** Пациенты с сочетанием сахарного диабета 2-го типа и бронхиальной астмы имеют более высокую частоту встречаемости G-аллеля полиморфизма лептина (G2548A) при сравнении с пациентами с изолированными данными заболеваниями. G-аллель полиморфизма лептина (G2548A) связан с более высокой частотой развития сахарного диабета 2-го типа у больных бронхиальной астмой. Анализ полиморфизма лептина (G2548A) может помочь выявить пациентов с бронхиальной астмой, у которых повышен риск развития сахарного диабета 2-го типа.

## Список литературы

1. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2023. [Электронный ресурс]. URL: <https://ginasthma.org/> (дата обращения: 21.11.2023).
2. Chuchalin A.G., Khaltayev N., Antonov N.S., Galkin D.V., Manakov L.G., Antonini P., Murphy M., Solodovnikov A.G., Bousquet J., Pereira M.H., Demko I.V. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation // *Int. J. Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2014. P. 63-74. DOI: 10.2147/COPD.S67283.
3. Стафеев А.Н., Логвиненко Н.И., Мельник А.В., Астраков С.В. Бронхиальная астма и коморбидные состояния. Варианты генетических полиморфизмов NO синтетаз. // *Современные проблемы науки и образования.* 2020. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30062> (дата обращения: 21.11.2023). DOI: 10.17513/spno.30062.
4. Rogala B., Bożek A., Gluck J. Is there a relationship between asthma and diabetes? // *J. Asthma.* 2020. Vol. 57 (12). P. 1332-1338. DOI: 10.1080/02770903.2019.1652642.
5. Torres R.M., Souza M.D.S., Coelho A.C.C., de Mello L.M., Souza-Machado C. Association between Asthma and Type 2 Diabetes Mellitus: Mechanisms and Impact on Asthma Control-A Literature Review // *Can Respir J.* 2021. P. 45-52. DOI: 10.1155/2021/8830439.
6. Иванов В.А., Сорокина Л.Н., Минеев В.Н. Сочетание бронхиальной астмы и сахарного диабета: синергизм или антагонизм? // *Пульмонология.* 2014. № 6. С. 103-107.
7. Ахмедова З.Г., Фараджева С.С. Полиморфизм генов FTO, LEP и LEPR у пациентов с сахарным диабетом типа 2 в малых этнических подгруппах Республики Азербайджан. // *Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение.* 2014. № 2 (7). С. 64-69.
8. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. 11-й выпуск. М., 2023. DOI: 10.14341/DM13042.
9. Ali L.A., Jemon K., Latif N.A., Bakar S.A., Alwi SSS. LEP G2548A polymorphism is associated with increased serum leptin and insulin resistance among T2DM Malaysian patients. // *Biomedicine (Taipei).* 2022. Vol. 3. P. 1-11. DOI: 10.37796/2211-8039.1326.
10. Dagdan B., Chuluun-Erdene A., Sengeragchaa O., Malchinkhuu M., Janlav M. Leptin Gene G2548A Polymorphism among Mongolians with Metabolic Syndrome // *Med Sci (Basel).* 2018. Vol. 1. № 3. P. 12-17. DOI: 10.3390/medsci7010003.
11. Wang Y., Hu C. Leptin and Asthma: What Are the Interactive Correlations? // *Biomolecules.* 2022. Vol. 12. P. 67-73. DOI: 10.3390/biom12121780.



12. Zhang L., Yin Y., Zhang H., Zhong W., Zhang J. Association of asthma diagnosis with leptin and adiponectin: a systematic review and meta-analysis // *J. Investig Med.* 2017. Vol. 65 (1) P. 57-64. DOI: 10.1136/jim-2016-000127.
13. Ali Assad N., Sood A. Leptin, adiponectin and pulmonary diseases // *Biochimie.* 2012. Vol. 94 (10). P. 18-29. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.03.006.
14. Sood A., Ford E.S., Camargo C.A. Jr. Association between leptin and asthma in adults // *Thorax.* 2006. Vol. 61 (4). P. 100-105. DOI: 10.1136/thx.2004.031468.
15. Li Z., Leynaert B., Dumas O., Diaz Gil O., Garcia-Aymerich J., Fito Colomer M., Le Moual N., Pison C., Romieu I., Siroux V., Camargo C.A. Jr, Varraso R., Nadif R. Role of Leptin in the Association Between Body Adiposity and Persistent Asthma: A Longitudinal Study // *Obesity (Silver Spring).* 2019. Vol. 27 (6). P. 894-898. DOI: 10.1002/oby.22466.