

АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА В СОЧЕТАНИИ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Ложкин Петр Павлович

Сафарова Нармин Шамиль кызы

Муниципальное автономное образовательное
учреждение «Лицей №9»

Толмачева Анастасия Александровна

аспирант

Научный руководитель: **Ложкина Наталья Геннадьевна**

д.м.н., профессор

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный
медицинский университет»

Министерства здравоохранения РФ
(ФГБОУ ВО НГМУ МЗ России)

Аннотация: Актуальность темы. В России количество больных сахарным диабетом 2 типа составляет более 4 миллионов человек, и каждый год оно возрастает. Наличие сахарного диабета (СД) увеличивает риск развития заболеваний сердца и сосудов в 2 раза. Наряду с «традиционными» факторами риска, активно изучаются молекулярно-генетические маркеры сахарного диабета и ишемической болезни сердца. Несмотря на многочисленные исследования в данной области все-таки отсутствует информация о том, какой генетический маркер наиболее значимый. Кроме того, в настоящее время нет точного математического способа, позволяющего рассчитать риск развития ИБС и СД 2 типа. Необходимость создать программу, способную по заданным параметрам и по авторскому алгоритму определять риск этих жизнеугрожающих состояний человека и побудило выполнить данный проект.

Цель исследования. Выявить новые генетические маркеры повышенного риска сахарного диабета 2 типа и создать программу для ЭВМ на языке C++, позволяющую рассчитывать риск СД 2 типа у человека.

Материалы и методы. Изучены частоты генотипов rs2464196 гена HNF1A по полиморфным вариантам у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа. Генотипирование - метод Realtime PCR

(зонды TaqMan, AppliedBiosystems, USA). Далее разработана программа для ЭВМ на языке C++, позволяющая выделять группу повышенного и стандартного риска по указанным заболеваниям.

Результаты и заключение. В исследовании установлена рискованная роль генотипа AA rs2464196 гена HNF1A в отношении сахарного диабета у больных ИБС. Разработанная авторская программа для ЭВМ на языке C++ позволяет выявлять предрасположенных лиц к СД 2 типа и ИБС.

Ключевые слова: Ишемическая болезнь сердца; генетические маркеры; сахарный диабет 2 типа, программа для ЭВМ

ALGORITHM FOR DETERMINING THE RISK OF TYPE 2 DIABETES DEVELOPMENT IN COMBINATION WITH CORONARY HEART DISEASE

Lozhkin Petr Pavlovich
Safarova Narmin Shamil kyzy
Tolmacheva Anastasia Alexandrovna
Lozhkina Natalya Gennadevna

Abstract: Background. In Russia, the number of patients with type 2 diabetes is more than 4 million people, and every year it is increasing. The presence of diabetes mellitus (DM) increases the risk of developing heart and vascular diseases by 2 times. Along with the "traditional" risk factors, molecular genetic markers of diabetes mellitus and coronary heart disease are being actively studied. Despite numerous studies in this area, there is still no information about which genetic marker is the most significant. In addition, at present there is no exact mathematical way to calculate the risk of developing coronary artery disease and type 2 diabetes. The need to create a program capable of determining the risk of these life-threatening human conditions according to the given parameters and the author's algorithm prompted the implementation of this project.

Purpose of the study. To identify new genetic markers of an increased risk of type 2 diabetes mellitus and create a computer program in C ++ that allows calculating the risk of type 2 diabetes in humans.

Materials and methods. The frequencies of the rs2464196 genotypes of the HNF1A gene according to polymorphic variants in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus were studied. Genotyping - Realtime PCR

method (TaqMan probes, AppliedBiosystems, USA). Further, a computer program in the C++ language was developed, which makes it possible to single out a group of increased and standard risk for these diseases.

Results and conclusions. The study established the risk role of the AA rs2464196 genotype of the HNF1A gene in relation to diabetes mellitus in patients with IHD. The developed author's computer program in the C++ language makes it possible to identify persons predisposed to type 2 diabetes and coronary artery disease.

Key words: Diabetes mellitus, ischemic heart disease, single nucleotide polymorphism, computer program.

Актуальность темы. В России количество больных сахарным диабетом 2 типа составляет более 4 миллионов человек, и каждый год оно возрастает. Наличие сахарного диабета (СД) увеличивает риск развития заболеваний сердца и сосудов в 2 раза. Наряду с «традиционными» факторами риска, активно изучаются молекулярно-генетические маркеры сахарного диабета и ишемической болезни сердца. Генетический маркер в исследовании отобран по ген-кандидатному и полногеномному ассоциативному принципам. Современные полногеномные ассоциативные исследования или полногеномные исследования ассоциаций (GWAS, genome wide association study) включают тестирование генетических вариантов в геномах людей для выявления ассоциаций генотип-фенотип. GWAS произвели революцию в области генетики заболеваний за последнее десятилетие, предоставив многочисленные убедительные ассоциации для большого количества патологий. Типичное исследование ассоциации включает четыре компонента. Первый компонент: отбор группы лиц с интересующим заболеванием, а также тщательно подобранной контрольной группы для сравнения. Второй компонент: генотипирование от сотен тысяч до миллионов вариантов однонуклеотидных последовательностей (ОНП, Single Nucleotide Polymorphism, SNP) в основной и контрольной группах. Третий компонент: статистический анализ для проверки связи общих или редких вариантов с заболеванием. Четвертый компонент: реплицирование выявленных полиморфизмов на независимой когорте пациентов. В отличие от исследований генов-кандидатов, оценивающих вариации в конкретных генах, полногеномные ассоциативные исследования не требуют предварительной гипотезы ассоциации между генетическими вариантами и заболеванием [1, с. 469].

Ген HNF1A (hepatocyte nuclear factor 1-alpha, ген ядерного фактора гепатоцитов 1a), который мы взяли для исследования, состоит из 10 экзонов, находится в хромосоме 12, на длинном плече (12q24.31). HNF1A кодирует ядерный фактор клеток печени-гепатоцитов 1A, который состоит из 631 аминокислоты. Второе название гена HNF1A, которое встречается в литературе – TCF1 (transcription factor-1, фактор транскрипции-1). Известно более 400 мутаций в гене HNF1A, подтверждена взаимосвязь HNF1A с развитием аутосомно-доминантного заболевания- MODY3 диабета (диабета молодых). Эта форма является наиболее распространенной среди четырнадцати известных на данный момент форм MODY. Кроме этого, имеются данные о связи HNF1A с риском развития СД 2 типа [2, с. 255-257].

Ряд работ подтверждает взаимосвязь RS2464196 гена HNF1A с факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе ишемической болезни сердца, инсульта. В другой работе продемонстрировано участие этого гена в экспрессии (превращении) некоторых белков-ферментов, опосредованно связанных с риском ИБС. Таким образом, мировой опыт изучения роли RS2464196 гена HNF1A показывает различную его роль в патогенезе сахарного диабета и ишемической болезни сердца, что подтолкнула нас к его изучению [2, с. 258].

Благодаря крупным исследованиям в медицине в последние 20–30 лет появилась возможность анализировать большие базы данных и прогнозировать течение и исход заболевания или продолжительности жизни человека. В качестве исходных данных ранее использовались опросники пациентов, результаты лабораторных и инструментальных исследований. С развитием компьютерных технологий предпринимаются попытки внедрения программированного прогнозирования в медицину [3, с. 53-56]. В частности, очень часто используют решающие модули на основе искусственных нейронных сетей или нечеткого логического вывода [4, с. 1063]. Применяются также гибридные решающие модули [3, с. 58, 4, с. 1065, 5, с. 279]. Большинство способов все-таки сложны и не реализуемы в ежедневной практике. Последние сведения побудили нас ко 2-му этапу исследования – созданию простого предсказательного алгоритма.

Гипотеза. Обнаружение новых генетических маркеров повышенного риска сахарного диабета 2 типа и создание алгоритма программы для ЭВМ на языке C++ позволит выявлять предрасположенных лиц на ранних этапах.

Цель исследования. Выявить новые генетические маркеры повышенного риска сахарного диабета 2 типа и создать программу для ЭВМ на языке C++, позволяющую рассчитывать риск СД 2 типа у человека.

Задачи исследования:

1. Создать базу данных (пол, возраст, вариант гена, используя при необходимости кодировку качественных показателей в числа 0 и 1) в табличном процессоре Excel.

2. Определить математическую частоту различных вариантов генотипов RS2464196 ГЕНА HNF1A у больных с сахарным диабетом 2 типа и без него в сочетании с ишемической болезнью сердца.

3. Создать программу для ЭВМ на языке C++, при помощи которой можно рассчитывать уровень риска по развитию СД 2 типа у любого человека.

Объект исследования. В исследование были включены пациенты женского и мужского пола с диагнозом ишемическая болезнь сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа ($n = 100$), и группу сравнения без СД ($n = 100$). Средний возраст составил 64,5 года.

Методы исследования. Молекулярно-генетические показатели определялись в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (заведующий лабораторией д-р мед. наук, профессор В.Н. Максимов). Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось методом Realtime PCR (зонды TaqMan, AppliedBiosystems, USA) на приборе ABI 7900HT в соответствии с протоколом фирмы-производителя. В исследование взят rs2464196 гена HNF1A по полиморфным вариантам.

Далее была создана база данных в табличном процессоре Excel, в которую включили данные людей (пол, возраст, вариант rs2464196 гена HNF1A, используя при необходимости кодировку качественных показателей в числа 0 и 1).

Достаточный объем данных и их анализ позволил создать программу для ЭВМ на языке C++, при этом использовался авторский алгоритм.

Результаты. Вначале авторы обучились методике полимеразной цепной реакции (ПЦР) (рис 2, 3). На следующем этапе исследования были подсчитаны частоты генотипов rs2464196 гена HNF1A по полиморфным вариантам в основной группе больных сахарным диабетом 2 типа и ишемической болезнью

сердца и группе сравнения (ИБС без СД 2 типа). Результаты представлены в диаграмме (рис. 1).

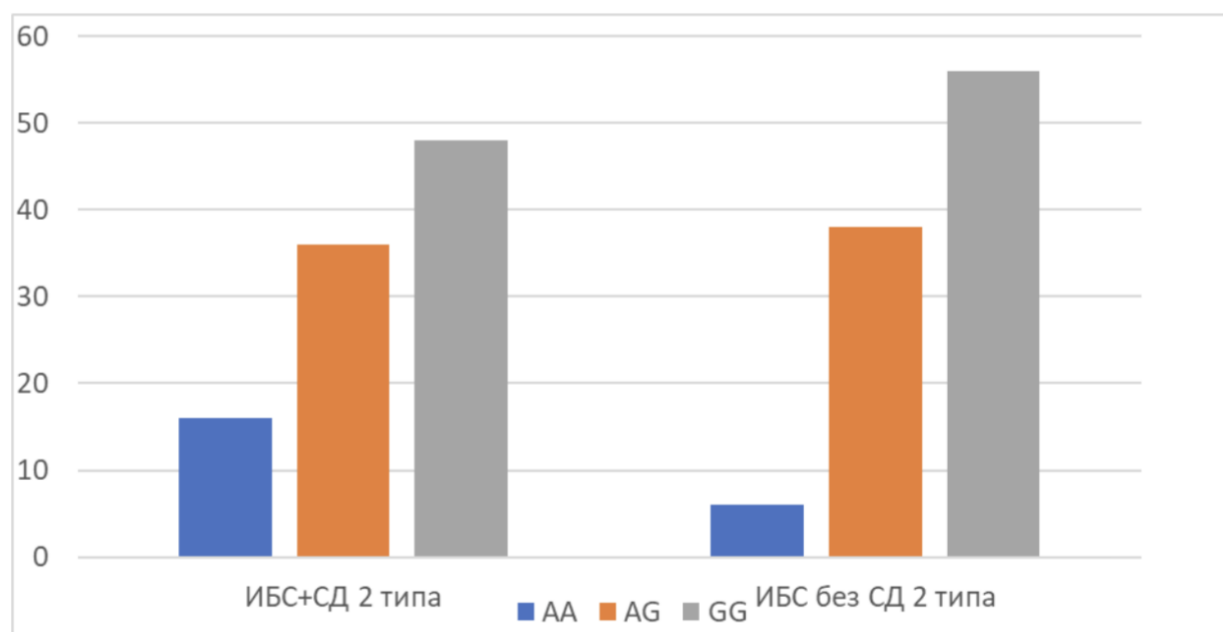


Рис. 1. Частоты генотипов rs2464196 гена HNF1A по полиморфным вариантам в исследуемых группах

В исследовании получены результаты о более высоком распространении AA rs2464196 гена HNF1A среди больных ИБС в сочетании с СД 2 типа против группы сравнения, различия достоверны.

Далее разработан авторский алгоритм программы для ЭВМ на языке C++ (зарегистрирована в Роспатенте, свидетельство **2022612305** от 10.02.22). Авторская программа для ЭВМ на языке C++ работает следующим образом: для определения риска указанных заболеваний необходимо ввести значение варианта генотипа rs2464196 гена HNF1A, при этом результат оценки риска выводится на экран монитора компьютера и определяется как «повышенный» или «низкий».

Выводы и заключение. В процессе выполнения работы авторами освоены навыки ПЦР-диагностики. В исследовании изучены ассоциации rs2464196 гена HNF1A с сахарным диабетом в сочетании с ИБС по полиморфным вариантам. Установлена условно рисковая роль генотипа AA в отношении вероятности развития сахарного диабета в сочетании с ИБС. Предложенная авторская программа для ЭВМ на языке C++ является абсолютно новым подходом, созданным на стыке наук-информатики, программирования,

биологии, медицины, который облегчит выявление людей с риском СД 2 типа. Программа может быть использована в учебной, практической и научной деятельности. Области применения – биология, медицина, числа и данные. Планируется широкое внедрение в практику полученных новых знаний и проверка этих данных на более широких популяциях.

Список литературы

1. Benefits and limitations of genome-wide association studies / V. Tam [et al.] // Nat Rev Genet. – 2019. – Vol. 20(8). – P. 467–484. doi: 10.1038/s41576-019-0127-1.
2. Wakil SM, Muiya NP, Tahir AI, Al-Najai M, Baz B, Andres E, Mazhar N, Al Tassan N, Alshahid M, Meyer BF, Dzimir N. A new susceptibility locus for myocardial infarction, hypertension, type 2 diabetes mellitus, and dyslipidemia on chromosome 12q24 / Dis Markers. – 2014; 2014:291419. doi: 10.1155/2014/291419. Epub 2014 Jun 26. PMID: 25057215; PMCID: PMC4098619.
3. Austin C, Kusumoto F. The application of Big Data in medicine: current implications and future directions / J Interv Card Electrophysiol. – 2016; Oct;47(1):51–59. doi: 10.1007/s10840-016-0104-y. Epub 2016 Jan 27. PMID: 26814841.
4. Jean A. Une brève introduction à l'intelligence artificielle [A brief history of artificial intelligence] / Med Sci (Paris). – 2020; Nov;36(11):1059–1067. French. doi: 10.1051/medsci/2020189. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33151868.
5. Haux R. Health information systems - past, present, future / Int J Med Inform. – 2006; Mar-Apr;75(3–4):268-81. doi: 10.1016/j.ijmedinf.2005.08.002. Epub 2005 Sep 19. PMID: 16169771.