

**Abstract**

**I. V. Marchenko,**  
**V. Yu. Harbuzova,**  
**Ye. Ye. Marchenko,**  
**O. A. Obukhova,**  
**O. V. Ataman,**  
Sumy State University, 2,  
Rymkogo-Korsakova st., Sumy,  
Ukraine

**THE IMPACT OF ENPP1 GENE K121Q POLYMORPHISM ON THE DEVELOPMENT OF CONCOMITANT CARDIOVASCULAR DISEASES IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES**

Diabetes mellitus (DM) is the most common endocrine pathology among persons of working age. The number of such patients is constantly increasing in all countries, exceeding currently 330 million people, which suggests the global epidemic of diabetes in the modern world. In Ukraine identified more than 1 million 200 thousand of such patients, and the majority of them (85–90 %) suffering with type 2 diabetes. In the overall mortality of patients with diabetes, 75 % of the mortality from cardiovascular disease (CVD). Therefore, the risk of myocardial infarction, ischemic stroke in diabetic patients increased in 2-3 times in comparison with the similar indicators in individuals of the same age without carbohydrate metabolism disorders. The important role of *ENPP1* gene in the development of calcification of the vascular wall and insulin resistance is proven. This contributes to CVD on the one hand, on the other hand – to type 2 diabetes. Timely detection of genetic markers, the elimination of modified risk factors and individualization of therapy, along with determining long-term outcomes for a particular patient will significantly improve the efficiency of all activities of preventive and curative work.

**Materials and Methods.** Venous blood of 163 patients with T2DM and 110 healthy individuals (control group) was used for genotyping. Analysis of K121Q polymorphism *ENPP1* gene (rs1044498) was examined by PCR-RFLP with the following restriction fragment length analysis of the allocation of them by electrophoresis in agarose gel. Statistical analysis was performed by using the software package SPSS-17. The value of  $P < 0.05$  was considered as significant.

**Results.** Genotyping of patients with type 2 diabetes and patients of the control group at the K121Q polymorphism has allowed establishing the frequency with which there are certain variants of *ENPP1* gene depending on the presence or absence of concomitant cardiovascular pathology.

Analyzing the frequency of genotypes of K121Q polymorphism gave an opportunity to assert that there is no statistically significant difference in the distribution of allelic variants among patients with type 2 diabetes with concomitant CHD ( $\chi^2 = 0.482$ ;  $P = 0.488$ ), arrhythmia ( $\chi^2 = 1.031$ ;  $P = 0.310$ ), myocardial hypertrophy ( $\chi^2 = 0.422$ ;  $P = 0.516$ ), myocardial infarction ( $\chi^2 = 0.307$ ;  $P = 0.579$ ). The exception was only of cerebrovascular pathologies, namely the development of ischemic stroke. Among patients with type 2 diabetes and ischemic stroke, people with K/K genotype was revealed in 48.8 % cases and with K/Q + Q/Q genotype – 51.2 %. The frequency of polymorphic variants in patients with type 2 diabetes without stroke was of 70.5 and 29.5 %, respectively.

Thus, in patients with type 2 diabetes carriers of the minor allele (K/Q + Q/Q) the risk of ischemic stroke was significantly higher than in individuals for the major allele (K/K) ( $\chi^2 = 6.361$ ;  $P = 0.012$ ).

**Conclusion.** It was found that patients with type 2 diabetes carriers of the minor allele (K/Q + Q/Q) occurrence of ischemic stroke was noted significantly more likely than in individuals for the major allele (K/K). There is no association between the K121Q polymorphism of *ENPP1* gene and the development of comorbidities such as coronary heart disease, myocardial infarction, myocardial hypertrophy and arrhythmia in patients with type 2 diabetes.

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus, *ENPP1* gene, allelic polymorphism, cardiovascular diseases.

**Corresponding author:** [i.marchenko@med.sumdu.edu.ua](mailto:i.marchenko@med.sumdu.edu.ua)

#### Резюме

**І. В. Марченко,  
В. Ю. Гарбузова,  
Є. Є. Марченко,  
О. А. Обухова,  
О. В. Агаман,**

*Сумський державний  
університет, вул. Римського-  
Корсакова, 2, м. Суми, Україна,  
40007*

#### **ВПЛИВ K121Q ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ENPP1 НА РОЗВИТОК СУПУТНЬОЇ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ПАТОЛОГІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ**

Наведено результати визначення поліморфізму K121Q гена *ENPP1* у 163 хворих із цукровим діабетом (ЦД) 2-го типу з наявною чи відсутньою супутньою серцево-судинною патологією в анамнезі. Встановлено, що у хворих із ЦД 2-го типу, носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q), виникнення ішемічного інсульту відмічалось значно частіше, ніж у осіб за основним алелем (K/K) ( $\chi^2 = 6,361$ ;  $P = 0,012$ ). Не виявлено асоціації між поліморфізмом K121Q гена *ENPP1* і такими супутніми захворюваннями, як ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда, гіпертрофія міокарда та аритмія у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2-го типу, ген *ENPP1*, поліморфізм генів, серцево-судинні захворювання.

#### Резюме

**І. В. Марченко,  
В. Ю. Гарбузова,  
Є. Є. Марченко,  
О. А. Обухова,  
А. В. Агаман,**

*Сумський державний уні-  
верситет, ул. Римського-Кор-  
сакова, 2, г. Суми, Україна*

#### **ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА K121Q ГЕНА ENPP1 НА РАЗВИТИЕ СОПУТСТВУЮЩЕЙ СЕРДЕЧНО- СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА**

Приведены результаты определения полиморфизма K121Q гена *ENPP1* у 163 больных с сахарным диабетом (СД) 2-го типа с имеющейся или отсутствующей сопутствующей сердечно-сосудистой патологией в анамнезе. Установлено, что у больных с СД 2-го типа, носителей минорного аллеля (K/Q + Q/Q), возникновение ишемического инсульта отмечалось намного чаще, чем у лиц по основному аллелю (K/K) ( $\chi^2 = 6,361$ ;  $P = 0,012$ ). Не выявлено ассоциации между полиморфизмом K121Q гена *ENPP1* и развитием такой сопутствующей патологии, как ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, гипертрофия миокарда и аритмия у пациентов с СД 2-го типа.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2-го типа, ген *ENPP1*, полиморфизм генов, сердечно-сосудистые заболевания.

**Автор, відповідальний за листування:** [i.marchenko@med.sumdu.edu.ua](mailto:i.marchenko@med.sumdu.edu.ua)



**Вступ**

На сьогоднішній день найбільш актуальною проблемою сучасної системи охорони здоров'я у більшості країн світу є супутня серцево-судинна патологія у хворих із цукровим діабетом (ЦД) 2-го типу за рахунок високої інвалідизації та смертності. Із всіх серцево-судинних захворювань (ССЗ) найпоширенішими є інфаркт міокарда (ІМ), ішемічна хвороба серця (ІХС), аритмії, гіпертрофія міокарда та ішемічний інсульт. Так, серед пацієнтів із ЦД 2-го типу ІХС реєструється у 23–36 % хворих, ІМ – 5–11 %, порушення мозкового кровообігу – 9–24 %, інсульт – 3–17 %, ангіопатія нижніх кінцівок – 6–62 % [1]. В основі розвитку ССЗ у хворих із ЦД лежать процеси прискореного розвитку діабетичної мікро- та макроангіопатії. Вважають, що для хворих із ЦД, крім традиційних факторів ризику розвитку атеросклерозу, притаманні специфічні – гіперглікемія, гіперінсулінемія, інсулінорезистентність, ендотеліальна дисфункція та порушення коагуляційних властивостей крові. Доведена важлива роль поліморфних варіантів гена *ENPP1* у розвитку кальцифікації судинної стінки та інсулінорезистентності, що сприяє виникненню з одного боку ССЗ, з іншого – ЦД 2-го типу [3–6, 11]. Своєчасне виявлення генетичних маркерів, корекція модифікованих факторів ризику та індивідуальний підхід до терапії, з визначенням для конкретного пацієнта віддаленого прогнозу, значно покращить ефективність усіх заходів лікувальної та профілактичної роботи.

Тому, **метою** нашого дослідження стало визначення розподілу алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом K121Q у хворих із цукровим діабетом 2-го типу з супутньою серцево-судинною патологією.

**Матеріали і методи.** У дослідженні використано кров 163 хворих із ЦД 2-го типу (53,4 % жінок і 46,6 % чоловіків). Контрольна група складалася зі 110 пацієнтів, у яких відсутність ЦД 2-го типу підтверджували шляхом збору анамнестичних даних та дослідження ряду біохімічних показників крові. Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.) та Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Усі пацієнти підписали інформовану угоду на участь у дослідженнях з наступним

забором венозної крові на генетичний аналіз. Визначення K121Q (rs1044498) поліморфізму гена *ENPP1* проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі. Детальна інформація щодо методики генотипування описані в одній із попередніх наших публікацій [2]. Одержані результати опрацьовували статистично з використанням пакету програм SPSS 17.0. При цьому достовірність відмінностей визначали за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона. Значення  $P < 0,05$  вважали достовірним.

**Результати дослідження.** Генотипування хворих із ЦД 2-го типу та пацієнтів контрольної групи за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* дало змогу виявити частоту окремих поліморфних варіантів цього гена залежно від наявності чи відсутності супутньої серцево-судинної патології (табл. 1). Аналізуючи розподіл генотипів за K121Q поліморфізмом в залежності від наявності чи відсутності супутньої ІХС, бачимо що співвідношення поліморфних варіантів (K/K і K/Q + Q/Q) серед хворих із ЦД 2-го типу без ІХС становило 57,9 і 42,1 %, а з супутньою ІХС – 66,0 і 34,0 % відповідно ( $\chi^2 = 0,482$ ;  $P = 0,488$ ). Отже, у хворих із ЦД 2-го типу не існує достовірного зв'язку між досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* та розвитком супутньої ІХС.

Ще один аналіз частот генотипів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* дав можливість стверджувати про те, що не існує статистично достовірної різниці у розподілі алельних варіантів серед хворих із цукровим діабетом 2-го типу з супутньою аритмією та без неї. Так, серед хворих із ЦД 2-го типу з нормальним серцевим ритмом осіб з K/K генотипом було 62,9 %, а з K/Q + Q/Q генотипом – 37,1 %. У пацієнтів з супутньою аритмією різні поліморфні варіанти зустрічалися в 71,8 і 28,2 % випадків відповідно ( $\chi^2 = 1,031$ ;  $P = 0,310$ ).

Вивчаючи розподіл генотипів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ЦД 2-го типу в залежності від наявності чи відсутності супутньої гіпертрофії міокарда можна зробити висновок, що не існує достовірного зв'язку між вивченим поліморфізмом та розвитком даної супутньої патології. Частота алельних варіантів (K/K і K/Q + Q/Q) серед хворих із ЦД 2-го типу без супутньої гіпертрофії міокарда дорівнювала 68,6 і 31,4 %, а в осіб з супутньою гіпертрофією – 63,4 і 36,6 % відповідно ( $\chi^2 = 0,422$ ;  $P = 0,516$ ).



Аналіз частоти алейних варіантів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ЦД 2-го типу в залежності від наявності чи відсутності в анамнезі інфаркту міокарда виявив, що не існує достовірного зв'язку між досліджуваним поліморфізмом та виникненням ІМ. Серед хворих із

ЦД 2-го типу без ІМ в анамнезі гомозигот за основним аелем К/К було 72,7 %, а носіїв мінорного аеля К/Q + Q/Q – 27,3 %. У пацієнтів з наявністю ІМ в анамнезі розподіл генотипів становив 64,5 і 35,5 % відповідно ( $\chi^2 = 0,307$ ;  $P = 0,579$ ).

**Таблиця 1 – Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з розвитком супутньої серцево-судинної патології у хворих із ЦД 2-го типу**

Генотип	Супутня патологія, n (%)	
	ІХС (–)	ІХС (+)
К/К	11 (57,9)	95 (66,0)
К/Q + Q/Q	8 (42,1)	49 (34,0)
$\chi^2 = 0,482$ ; $P = 0,488$		
	Аритмії (–)	Аритмії (+)
К/К	78 (62,9)	28 (71,8)
К/Q + Q/Q	46 (37,1)	11 (28,2)
$\chi^2 = 1,031$ ; $P = 0,310$		
	Гіпертрофія міокарда (–)	Гіпертрофія міокарда (+)
К/К	35 (68,6)	71 (63,4)
К/Q + Q/Q	16 (31,4)	41 (36,6)
$\chi^2 = 0,422$ ; $P = 0,516$		
	ІМ (–)	ІМ (+)
К/К	98 (64,5)	8 (72,7)
К/Q + Q/Q	54 (35,5)	3 (27,3)
$\chi^2 = 0,307$ ; $P = 0,579$		
	Ішемічний інсульт (–)	Ішемічний інсульт (+)
К/К	86 (70,5)	20 (48,8)
К/Q + Q/Q	36 (29,5)	21 (51,2)
$\chi^2 = 6,361$ ; $P = 0,012$		

Примітка: n – кількість осіб; P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за  $\chi^2$ -критерієм

Розподіл генотипів (К/К і К/Q + Q/Q) за досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ЦД 2-го типу, що перенесли інсульт, та у пацієнтів, у яких немає даної патології, становив: 48,8 і 51,2 % та 70,5 і 29,5 % відповідно. Таким чином, у хворих із ЦД 2-го носіїв мінорного аеля К/Q + Q/Q ризик виникнення ішемічного інсульту достовірно вищий, ніж у гомозигот за основним аелем К/К ( $\chi^2 = 6,361$ ;  $P = 0,012$ ).

**Обговорення результатів.** У проведених нами дослідженнях встановлено, що серед хворих із ЦД 2-го типу не існує достовірного зв'язку між K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* і розвитком проаналізованих нами супутніх серцево-судинних захворювань (ІМ, ІХС, гіпертрофія міокарда, аритмії). Винятком є лише цереброваскулярна патологія, а саме ішемічний інсульт. У хворих з генотипом К/Q + Q/Q ризик виникнення ішемічного інсульту значно вищий, ніж у гомо-

зигот за основним аелем К/К. Відомо, що ішемія головного мозку внаслідок мікро- та макросудинних уражень при цукровому діабеті має метаболічну основу розвитку. Так, за даними численних досліджень, у хворих із ЦД ризик виникнення ішемічного інсульту підвищується у 1,5–6 разів [9].

У своїх дослідженнях М. Moehlecke et al. не встановили залежності між досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* і розвитком ІХС у пацієнтів із ЦД мешканців Бразилії. Розподіл алейних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом K121Q (К/К, К/Q і Q/Q) у групі хворих на ЦД із ІХС був 60,8; 34,4 і 4,8 %, а у хворих без ІХС – 64,0; 32,7 і 3,3 % відповідно ( $P = 0,574$ ) [10]. Проте в дослідженнях G. Lazarevic et al. та I. Tasic et al., навпаки, встановили зв'язок досліджуваного поліморфізму з розвитком ІХС у мешканців Сербії, хворих на цукровий діабет 2-го типу. Автори ствер-



джують, що в осіб з генотипом K/Q + Q/Q високий ризик виникнення ІХС у хворих із ЦД [7]. Розподіл генотипів K/K і K/Q + Q/Q серед хворих із ІХС, становив 71,25 і 28,75 % проти 82,0 і 18,0 % у контролі, що достовірно відрізнявся ( $P < 0,05$ ) [12]. Такі ж дані отримали О. G. Shaker і М. F. Ismail, вони виявили асоціацію цього поліморфізму з інфарктом міокарда в єгипетській популяції ( $P = 0,004$ ). Вчені установили, що у

носіїв мінорного алеля ризик виникнення інфаркту міокарда в 3 рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем [8]. G. Endler et al. довели, що у носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q мешканців Відня ризик виникнення інфаркту міокарда у 2,6 рази вищий, а в мешканців центральної Німеччини – у 4,5 рази вищий, ніж у осіб з K/K генотипом, за досліджуванним поліморфізмом гена *ENPP1* [13].

### Висновки

Встановлено, що у хворих із ЦД 2-го типу, носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q) ризик виникнення ішемічного інсульту більший, ніж у осіб за

основним алелем (K/K). Не існує асоціації між поліморфізмом K121Q гена *ENPP1* і розвитком такої супутньої патології, як ІХС, ІМ, гіпертрофія міокарда та аритмія у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

### References (список літератури)

- Chernyavska IV. [Poednannya tsukrovogo diabetu 2 typu ta sertsevo-sudynnoyi patologiyi: struktura, osoblyvosti klinichnogo profilyu i zminy metabolizmu]. *Klinichna endokrynologiya ta endokrynna hirurgiya*. 2015;4(52):31–36
- Marchenko IV, Prasol DA. [Asotsiatsiya K121Q-polimorfizmu gena ektonukleotydu pirofosfatazy/fosfodiesterazy 1 (ENPP1) u patsiyentiv iz tsukrovym diabetom 2-ho typu z riznymy velychynamy IMT]. *J. Clin. Exp. Med. Res.* 2015;3(4):543–549.
- McAteer JB, Prudente S, McAteer JB, Bacci S. The ENPP1 K121Q polymorphism is associated with type 2 diabetes in European population. *Diabetes*. 2008;57:1125–1130.
- Tang ST, Shen XR, Tang HQ. Association of the ENPP1 K121Q polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in different populations: evidence based on 40 studies. *Endocr. J.* 2014;61(11):1093–1103.
- Stolerman ES, Manning AK, McAteer JB. Haplotype structure of the ENPP1 gene and nominal association of the K121Q missense single nucleotide polymorphism with glycemic traits in the Framingham Heart Study. *Diabetes*. 2008;57:1971–1977.
- Chen MP, Chung FM, Chang DM. ENPP1 K121Q polymorphism is not related to type 2 diabetes mellitus, features of metabolic syndrome, and diabetic cardiovascular complications in a Chinese population. *The Review of Diabetic Studies*. 2006;3(1):21–30.
- Lazarevic G, Milojkovic M, Tasic I. PC-1 (ENPP1) K121Q polymorphism in overweight and obese type 2 diabetic coronary heart disease patients. *Acta Cardiologica*. 2008;63(3):323–330.
- Shaker OG, Ismail MF. Association of genetic variants of MTHFR, ENPP1, and ADIPOQ with myocardial infarction in Egyptian patients. *Cell Biochem. Biophys.* 2014;69:265–274.
- Pashkovska NV, Pashkovskiy VM. [Gostri porushennya mozkovogo krovoobigu u hvoryh na tsukrovyy diabet]. *Praktychna angiologiya*. 2011;5-6(44-45). Retrieved from: <http://www.angiology.com.ua/ua-issue-article-423#Gostri-porushennya-mozkovogo-krovoobigu-u-hvorih-na-cukroviy-diabet>
- Moehlecke M, Kramer CK, Leitão CB. ENPP1 K121Q polymorphism and ischemic heart disease in diabetic patients. *Arq. Bras. Cardiol.* 2010;94(2):157–161.
- Rozumenko I.A., Garbusova V.Y., Ataman Y.A., Polonikov A.V., Ataman A.V. K121Q Polymorphism of the ENPP1 gene is related to acute coronary syndrome in Ukrainian patients with normal but not enhanced body mass index. *OnLine J. Biol. Sci.* 2014;14(4):271–276.
- Tasic I, Milojkovic M, Sunder-Plassmann R. The association of PC-1 (ENPP1) K121Q polymorphism with metabolic syndrome in patients with coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta*. 2007;377:237–242.
- Endler G, Mannhalter C, Sunder-Plassmann HJ. The K121Q polymorphism in the plasma cell membrane glycoprotein 1 gene predisposes to early myocardial infarction. *Mol. Med.* 2002;80:791–795.

(received 30.03.2017, published online 29.06.2017)

(одержано 30.03.2017, опубліковано 29.06.2017)

