

УДК 616.379-008.64+577.171.6

С.В. Зябліцев*, П.А. Чернобривцев, О.П. Чернобривцев*, Є.В. Антонов******Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ****Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ***ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ RS1137101 ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНУ НА РОЗВИТОК ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ГО ТИПУ**

Вивчали роль поліморфізму rs1137101 гена LEPR у розвитку цукрового діабету 2-го типу (ЦД-2) і його вплив на клініко-лабораторні показники, пов'язані з ожирінням у цих хворих. Досліджено 103 пацієнти з діагнозом ЦД-2, які мали клінічно виражені ускладнення. Аналіз поліморфних ДНК-локусів здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (TaqMan® SNP Genotyping Assay). Результати показали, що алельний поліморфізм rs1137101 (223Gln>Arg) був асоційований з розвитком ЦД-2: алель Gln підвищує, а алель Arg знижує (OR=1,5; p=0,039) ризик його розвитку. Наявність алелі G у хворих з діабетом сприяє розвитку ожиріння та його проявів, а саме більш високим значенням індексу маси тіла та індексу інсулінорезистентності, а також більшому рівню в крові лептину і тригліцеридів на тлі зменшення вмісту ліпопротеїдів високої щільності.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, ген рецептора лептину, rs1137101.

Незважаючи на прийняття в більшості країн світу національних програм по боротьбі з цукровим діабетом, його поширеність і захворюваність продовжують збільшуватись і в основному за рахунок цукрового діабету 2-го типу (ЦД-2) [1]. Аналогічна тенденція характерна й для України, де на сьогодні нараховується понад 1,3 млн хворих. Насправді ці дані істотно занижені, оскільки понад 50 % хворих на ЦД-2, з предіабетом і прихованим перебігом захворювання залишаються не діагностованими [2].

Встановлено, що основною ланкою патогенезу ЦД-2 є хронічна гіперглікемія, яка розвивається на тлі інсулінорезистентності і прогресуючого зниження функціональної активності β-клітин підшлункової залози [3, 4]. При цьому в більшості випадків ЦД-2 поєднується з абдомінально-вісцеральним ожирінням [1, 2]. Ступінь ожиріння прямо впливає на швидкість розвитку, а відповідно і на тяжкість гіперглікемії та серцево-судинних ускладнень, які є однією з основних причин ранньої інвалідизації і високої летальності хворих [1].

Ключова роль у регуляції процесів ліпогенезу і окиснення жирних кислот відводиться лептину, який, будучи інтегрованим у

систему зворотного зв'язку за участю гіпоталамічних нейропептидів, бере участь у системі регуляції голоду і насичення. Встановлено, що при ЦД-2 розвивається феномен лептинорезистентності, при якому гіперлептинемія, що прямо залежить від об'єму жирової тканини, супроводжується втратою фізіологічних властивостей гормону. Лептинорезистентність робить істотний внесок у формування і прогресування ожиріння, ангіопатій та інсулінорезистентності [3, 4].

Описано декілька причин втрати чутливості до лептину. Серед них провідну роль відводять порушенням структури специфічних рецепторів LepRa-LepRf, що присутні в гіпоталамусі, периферичних органах і тканинах (жировій, печінці, скелетних м'язах, підшлунковій залозі, яєчниках, передміхуровій залозі, плаценті, нирках, легенях) і кодуються одним геном – LEPR (хромосомна локалізація 1p31, екзон 24) [4, 5]. Білковий продукт цього гена – gp130 належить до сімейства рецепторів цитокінів, які стимулюють транскрипцію генів через активацію цитозольних білків STAT [4]. Для LEPR описана низка поліморфізмів, з яких найбільш вивченим є rs1137101. Суть цього SNP полягає в заміні аденіну (A) на гуанін (G) в 668 позиції

© С.В. Зябліцев, П.А. Чернобривцев, О.П. Чернобривцев, Є.В. Антонов, 2016

гена (668A>G), що призводить до заміни глутаміну на аргінін в 223 позиції рецепторного білка (Gln223Arg) [6]. Результати досліджень, присвячених вивченню впливу поліморфізму rs1137101 гена LEPR на розвиток ЦД-2 суперечливі, а в українській популяції і зовсім не визначені.

Метою дослідження було вивчення ролі поліморфізму rs1137101 гена LEPR в генезі ЦД-2 і його впливу на клініко-лабораторні показники, що пов'язані з ожирінням у цих хворих.

Матеріал і методи. Досліджено 103 пацієнти з діагнозом ЦД-2, які мали клінічно виражені ускладнення, асоційовані з основним захворюванням. Пацієнти були у віці від 33 до 79, у середньому (53±8) років. Серед них чоловіків було 38 (37 %), жінок – 65 (63 %). Усі пацієнти мали ускладнення у вигляді діабетичних полінейропатій (88 %), мікроангіопатій (84 %), офтальмопатій (40 %), енцефалопатій (27 %) та нефропатій (20 %). Тривалість захворювання складала від 1 до 25 років. Наявність СД-2 у близьких родичів відмічали 23 % пацієнтів. У якості контрольної групи обстежені 100 практично здорових людей відповідної статі та віку. Аналіз поліморфних ДНК-локусів здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі з використанням тест-систем TaqMan® SNP Genotyping Assay (США) на ампліфікаторі Applied Biosystems 7500 RealTime PCR System (США). У крові визначали біохімічні показники ліпідного обміну спектрофотометричними методами, за антропометричними та клінічними даними розраховували індекс маси тіла (ІМТ) та індекс інсулінорезистентності (НОМА-ІR). Вплив поліморфних маркерів на розвиток захворювання оцінювали із застосуванням таблиць спряженості і дисперсійного аналізу, ступінь асоціації із захворюванням – з використанням величини відношення шансів (OR). Отримані дані статистично обробили.

Результати та їх обговорення. Частоти генотипів поліморфізму rs1137101 гена LEPR розподілилися в групі пацієнтів з ЦД-2 і контрольній групі наступним чином: Gln/Gln – 0,282 і 0,170; Gln/Arg – 0,582 і 0,600; Arg/Arg – 0,136 і 0,230 (рис. 1).

Аналіз розподілу частот генотипів виявив статистично значущий приріст (в 1,65 раза; $p_{(Fet)}=0,041$) частоти генотипу Gln/Gln в групі пацієнтів з ЦД-2 порівняно з контролем.

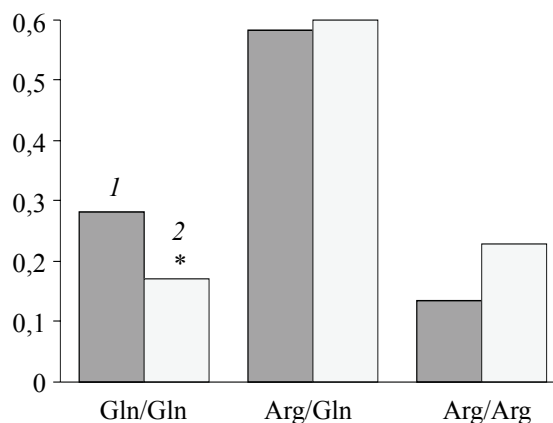


Рис. 1. Частоти генотипів поліморфізму rs1137101 гена LEPR в групах хворих на ЦД-2 (1) і в контролі (2).

* відмінності між групами статистично значущі (за точним методом Фішера $p=0,041$)

Частоти інших генотипів статистично значуще не розрізнялися.

Слід зазначити, що отримані нами дані відповідали закону розподілу Харді–Вайнберга для випадків ($\chi^2=3,730$, $df=1$, $p=0,162$) і контрольів ($\chi^2=4,175$, $df=1$, $p=0,129$).

Алельні частоти поліморфізму rs1137101 гена LEPR розподілилися наступним чином: Gln – 0,573 і 0,470; Arg – 0,427 і 0,530 відповідно у хворих на ЦД-2 і пацієнтів контрольної групи. При цьому виявлена статистично значуща різниця у прирості частоти алельного маркера Gln (у 1,2 раза) і зниженні частоти Arg (у 1,2 раза) з показником $p_{(Fet)}=0,024$ (рис. 2).

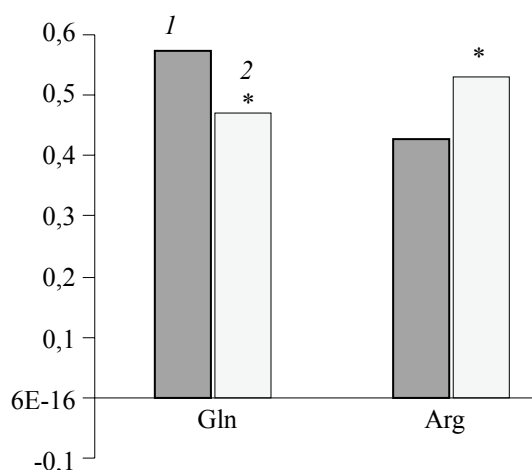


Рис. 2. Частоти алелей поліморфізму rs1137101 гена LEPR в групах хворих на ЦД-2 (1) і в контролі (2).

* відмінності між групами статистично значущі (за точним методом Фішера $p=0,024$)

Аналіз таблиць спряженості (3×2) не виявив статистично значущої асоціації генотипів поліморфізму rs1137101 гена LEPR з розвитком ЦД-2: $\chi^2=5,276$; $df=2$; $p=0,074$ (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив генотипів поліморфізму rs1137101 гена LEPR за критерієм χ^2 на розвиток ЦД-2; відношення шансів (OR) при довірчому інтервалі 95 %

Генотип	Хворі на ЦД-2 (n=103)	Контроль (n=100)	OR	CI-95 %	χ^2	p
Gln/Gln	29	17	1,913	0,973–3,761	5,276	0,074
Gln/Arg	60	60	0,930	0,531–1,628		
Arg/Arg	14	23	0,527	0,254–1,094		

У той же час аналіз впливу алелей поліморфізму rs1137101 гена LEPR на розвиток ЦД-2 показав статистично значущу асоціацію алелі Gln з наявністю захворювання: $\chi^2=4,299$; $df=1$; $p=0,039$ (табл. 2).

Встановлено, що у носіїв алелі Gln збільшувався ступінь асоціації з ЦД-2 у 1,5 раза (OR=1,512; CI=1,022–2,237; $p=0,039$), а присутність в генотипі алелі Arg знижувала ступінь асоціації в 1,5 раза (OR=0,661; CI=0,447–0,978; $p=0,039$).

Дисперсійний аналіз виявив вплив алелі Gln поліморфізму rs1137101 гена LEPR на більш високі значення у порівнянні з алеллю Arg ІМТ – (26,29±0,81) кг/м² проти (30,32±0,68) кг/м²; F=7,51; $p=0,003$; вмісту лептину в крові – (87,27±7,52) нг/мл проти (105,58±10,25) нг/мл; F=6,59; $p=0,006$; рівня тригліцеридів: (4,48±0,41) ммоль/л проти (5,52±0,48) ммоль/л; F=5,27; $p=0,015$, НОМА-IR – (7,66±0,75) проти (9,47±0,99); F=3,64; $p=0,040$, а також зменшення концентрації ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) у крові –

(2,01±0,09) ммоль/л проти (1,57±0,11) ммоль/л; F=4,90; $p=0,019$.

Перераховані зміни традиційно асоціюються з ожирінням у хворих на ЦД-2 [7, 8] і представлені в табл. 3 в міру зниження сту-

пення впливу на них алелей поліморфізму rs1137101 гена LEPR: підвищення ІМТ > гіперлептинемія > дисліпідемія (приріст рівня тригліцеридів та зниження протективних ЛПВЩ), що відбувалося на тлі посилення інсулінорезистентності.

Численні дані [7–9] показують, що поліморфізм rs1137101 призводить до порушення структури і функції рецептора лептину і блокує його експресію з порушенням проведення гормонального сигналу. За нашими даними, присутність в генотипі алелі Gln сприяє підвищенню ІМТ та НОМА-IR, рівню у крові лептину та тригліцеридів на тлі зниження рівня у крові протективних ЛПВЩ.

Таким чином, поліморфізм rs1137101 (223Gln>Arg) гена LEPR є фактором ризику для ЦД-2 і одночасно сприяє розвитку ожиріння у таких хворих. Отже, ЦД-2 можна віднести до захворювань із спадковою схильністю, які розвиваються у пацієнтів з відповідним генотипом поліморфізму rs1137101 гена LEPR згідно з мультиплікативною мо-

Таблиця 2. Вплив алелей поліморфізму rs1137101 гена LEPR за критерієм χ^2 на розвиток ЦД-2; відношення шансів (OR) при довірчому інтервалі 95 %

Алель	Хворі на ЦД-2 (n=206)	Контроль (n=200)	OR	CI-95 %	χ^2	p
Gln	118	94	1,512	1,022–2,237	4,299	0,039
Arg	88	106	0,661	0,447–0,978		

Таблиця 3. Показники, на які виявлено статистично значущий вплив алелей поліморфізму rs1137101 гена LEPR (M±m)

Показник	Алелі		F	p
	Gln	Arg		
ІVN, кг/м ²	30,32±0,68	26,29±0,81	7,51	0,003
Лептин, нг/мл	105,58±10,25	87,27±7,52	6,59	0,006
Тригліцериди, ммоль/л	5,52±0,48	4,48±0,41	5,27	0,015
ЛПВЩ, ммоль/л	1,57±0,11	2,01±0,09	4,90	0,019
НОМА-IR	9,47±0,99	7,66±0,75	3,64	0,040

деллю успадкування при провокаційному впливі модифікованих факторів ризику.

Висновки

1. У пацієнтів з ЦД-2 виявлена більша частота генотипу Gln/Gln у порівнянні з контрольною групою (у 1,65 раза; $p_{(Fet)}=0,041$).

2. Алель Gln виявлялася частіше, а алель Arg – рідше при ЦД-2 (у 1,2 раза у порівнянні з контролем; $p_{(Fet)}=0,024$). У носіїв алелі Gln ризик розвитку ЦД-2 збільшений у 1,5 раза, тоді як присутність алелі Arg знижує ризик захворювання у 1,5 раза ($p=0,039$).

3. Наявність алелі Gln у хворих на ЦД-2 сприяє прогресуванню ожиріння та інсулінорезистентності, більш вираженій гіперлептинемії та дисліпідемії (приріст рівня тригліцеридів і зниження протективних ЛПВЩ).

Перспективи подальших досліджень: з'ясування протективної ролі алелі Arg і визначення індивідуального генетичного ризику захворювання, що слугуватиме для розробки диференційованого підходу до профілактики і лікування ЦД-2 та його ускладнень в залежності від спадкової схильності конкретного пацієнта.

Література

1. Global status report on noncommunicable diseases 2014 / WHO. – Geneva: World Health Organization, 2014. – 298 p.
2. Маньковский Б.Н. Распространенность невыявленного сахарного диабета 2 типа и предиабета в Украине: результаты эпидемиологического исследования «ДИАПАЗОН» / Б.Н. Маньковский // *Диабет. Ожирение. Метаболический синдром.* – 2014. – Т. 3, № 5. – С. 70–75.
3. Инсулиновая резистентность и роль гормонов жировой ткани в развитии сахарного диабета: Пособие для врачей / И.И. Дедов, М.И. Балаболкин, Г.Г. Мамаева и др. – М., 2005. – 88 с.
4. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation / G. Fantuzzi // *J. Allergy and Clinical Immunology.* – 2006. – Vol. 115, № 5. – P. 911–919.
5. LEPR leptin receptor [Homo sapiens (human)] // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
6. Genome-wide association study identifies polymorphisms in LEPR as determinants of plasma soluble leptin receptor levels / Q. Sun, M.C. Cornelis, P. Kraft, et al. // *Human Molecular Genetics* – 2010. – Vol. 19, № 9. – P. 1846–1855.
7. Association of four insulin resistance genes with type 2 diabetes mellitus and hypertension in the Chinese Han population / Bo Jiang, Ya Liu, Yuxin Liu, et al. // *Mol. Biol. Rep.* – 2014. – Vol. 41 (2). – P. 925–933.
8. IGF2, LEPR, POMC, PPARC, and PPARC1 gene variants are associated with obesity-related risk phenotypes in Brazilian children and adolescents // E.M. Queiroz, A.P.C. Candido, I.M. Castro, et al. // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2015. – Vol. 48 (7). – P. 595–602.
9. Functional consequences of the human leptin receptor (LEPR) Q223R transversion / G. Stratigopoulos, Ch. A. LeDuc, N. Matsuoka, et al. // *Obesity (Silver Spring).* – 2009. – Vol. 17 (1). – P. 126–135.

С.В. Зяблицев, П.А. Чернобривцев, А.П. Чернобривцев, Е.В. Антонов

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА rs1137101 ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНА НА РАЗВИТИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-го ТИПА

Изучали роль полиморфизма rs1137101 гена LEPR в развитии сахарного диабета 2-го типа и его влияние на клинико-лабораторные показатели, связанные с ожирением у этих больных. Обследовано 103 пациента, которые имели клинически выраженные осложнения. Анализ полиморфных ДНК-локусов осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (TaqMan® SNP Genotyping Assay). Результаты показали, что аллельный полиморфизм rs1137101 (223Gln>Arg) был ассоциирован с развитием сахарного диабета 2-го типа: аллель Gln повышает, а аллель Arg снижает ($OR=1,5$; $p=0,039$) риск его развития. Наличие аллели Gln у больных с диабетом способствует развитию ожирения и его проявлений, а именно более высоким значениям индекса массы тела и индекса инсулинорезистентности, а также большему уровню в крови лептина и триглицеридов на фоне уменьшения содержания липопротеидов высокой плотности.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, ген рецептора лептина, rs1137101.

S.V. Ziablitsev, P.A. Chernobrivtsev, A.P. Chernobrivtsev, E.V. Antonov

INFLUENCE OF POLYMORPHISM rs1137101 OF THE LEPTIN RECEPTOR GENE ON DIABETES MELLITUS 2 TYPES DEVELOPMENT

It were studied of gene LEPR polymorphism rs1137101 role in diabetes mellitus 2 type development and his influences on the clinical and laboratory data, related to obesity for these patients. 103 patients are inspected, that had the clinically expressed complications. The analysis of polymorphic DNA-loci was carried out by the method of polymerase chain reaction in real time (TaqMan® SNP Genotyping Assay). Results showed that allelic polymorphism of rs1137101 (223Gln>Arg) had been associated with diabetes mellitus 2 types development: allele Gln promotes, while allele Arg reduces (OR=1,5; p=0,039) the risk of its development. Presence allele Gln for diabetic patients assists development of obesity and his displays, namely – to the higher values of body mass index and HOMA-IR, and also to the greater leptin and triglycerides blood levels on a background reduction of high-density lipoproteides maintenance.

Key words: *diabetes mellitus 2 types, leptin receptor gene, rs1137101.*

Поступила 18.04.16