

УДК 616.379-008.64+577.171.6

ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНУ З РОЗВИТКОМ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ТА ОЖИРІННЯ

**С.В. Зябліцев, О.С. Ларін, П.А. Чернобривцев,
М.В. Зябліцева, Т.Ю. Юзвенко**

Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ



Зябліцев Сергій Володимирович

*д-р мед. наук, проф., акад. Академії наук вищої освіти України,
зав. відділу патофізіології, імунології та трансплантології
01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13-А
Тел./факс: (044) 253-66-26
E-mail: zsv@endosurg.com.ua*

Основною причиною розвитку цукрового діабету (ЦД) 2 типу є хронічна гіперглікемія, яка розвивається за наявності інсулінорезистентності і прогресуючого зниження функціональної активності β -клітин підшлункової залози [1, 5]. У більшості випадків ЦД 2 типу поєднується з абдомінально-вісцеральним ожирінням [2, 8]. Показаний прямий зв'язок ступеня ожиріння та швидкості розвитку проявів та ускладнень ЦД 2 типу [8].

Важлива роль у регуляції процесів ліпогенезу й окислення жирних кислот належить гормону білої жирової тканини лептину, який регулює енергетичний баланс шляхом пригнічення відчуття голоду [1, 5]. Лептин зв'язується з рецепторами в латеральному (пригнічує відчуття голоду) і в медіальному гіпоталамусі (стимулює відчуття насичення) та протидіє ефектам «гормону голоду» греліну, гальмує виділення в аркуатному ядрі гіпоталамуса нейропептиду Y та Agouty-related peptide (AgRP) та стимулює виділення α -меланоцитстимулюючого гормону [1]. При аліментарному ожирінні чутливість до лептину знижується, що обумовлює збільшення апетиту та гіперфагію [5]. При ЦД 2 типу розвивається феномен лептинорезистентності, при якому гіперлептинемія, що прямо залежить від об'єму жирової тканини, супроводжується втратою фізіологічних властивостей гормону [1, 5].

Серед основних причин розвитку лептино-резистентності основною вважають порушення функціонування лептинових рецепторів LepRa і

LepRf, які присутні в гіпоталамусі, периферичних органах і тканинах (жировій, печінці, скелетних м'язах, підшлунковій залозі, яєчниках, передміхуровій залозі, плаценті, нирках, легенях) і кодуються геном LEPR (хромосомна локалізація 1p31, екзон 24) [5, 11]. Білковий продукт цього гена – gp130 належить до сімейства рецепторів цитокінів, які стимулюють транскрипцію генів через активацію цитозольних білків JAK-STAT (Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription protein) [11]. Для LEPR описана низка поліморфізмів, з яких найбільш клінічно значимим є rs1137101. Суть цього SNP полягає в заміні аденіну (A) на гуанін (G) в 668 позиції гена (668A>G), що призводить до заміни глутаміну на аргінін в 223 позиції рецепторного білка (Gln223Arg) [6].

Показано, що в різних популяціях носії алеля 223Gln мають більшу масу тіла та індекс маси тіла (ІМТ) [4, 9, 10, 12], рівні в крові холестерину, тригліцеридів [10], лептину [7] та підвищений ризик розвитку ожиріння [10, 12], тоді як носії алеля 223Arg, навпаки, – нижчі показники ІМТ, рівень лептину та ризик розвитку ожиріння [4, 9]

Мета роботи – вивчення зв'язку поліморфізму rs1137101 гена LEPR з розвитком ЦД 2 типу та ожиріння у таких хворих.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідження включено 103 пацієнти з діагнозом ЦД 2 типу віком від 33 до 79 років, у середньому (53 \pm 8) років, які склали групу випадків. Серед них чолові-

ків – 38 (37%), жінок – 65 (63%). Усі пацієнти мали ускладнення у вигляді діабетичних полінейропатії (88%), мікроангіопатії (84%), офтальмопатії (40%), енцефалопатії (27%) та нефропатії (20%). Тривалість захворювання складала від 1 до 25 років. Наявність ЦД 2 типу у близьких родичів виявлена у 23% пацієнтів. Згідно рекомендацій ВООЗ визначали ІМТ (кг/м²). Серед обстежених осіб недостатньої маси тіла не було в жодного, нормальний ІМТ (18,5–24,9) встановлено у 19,5%, надмірна маса тіла – 30,1%, ожиріння I ступеня – 29,1%, II ступеня – 14,6% і III ступеня – 6,7%. Тобто у відібраній когорті кількість пацієнтів з нормальною або надмірною масою тіла співвідносилася з кількістю пацієнтів з ожирінням як 1:1. У контрольній групі обстежено 100 практично здорових людей відповідної статі та віку, які не мали ні ЦД 2 типу, ані ожиріння. Аналіз поліморфних ДНК-локусів здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі з використанням тест-систем TaqMan® SNP Genotyping Assay (США). Вплив поліморфних маркерів на розвиток захворювання оцінювали із застосуванням таблиць спряженості і дисперсійного аналізу, ступінь асоціації із захворюванням – з використанням величини відношення шансів (OR). У крові, забраної з ліктьової вени в ранковий час (8–9 год) натще при первинному обстеженні пацієнта, імуноферментним методом визначали вміст лептину (набір реактивів DRG International Inc., США). Статистичні розрахунки здійснювали в середовищі прикладних програм Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Робота виконана в рамках НДР МОЗ України «Патогенез молекулярно-генетичних порушень жирового та вуглеводного обміну при цукровому діабеті 2 типу та оптимізація цукрознижувальної терапії», держ. реєстр. № 0116U003041, Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин

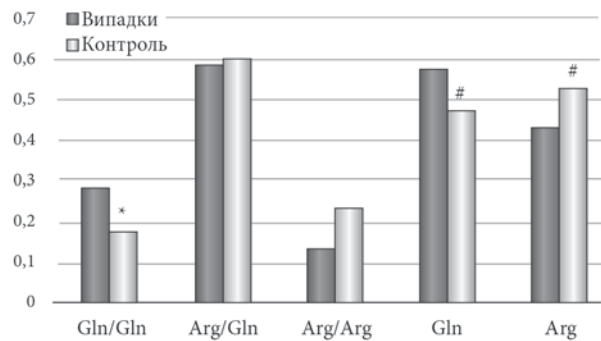


Рис. 1. Частоти генотипів поліморфізму rs1137101 гена LEPR у групах пацієнтів з ЦД 2 типу (випадки) і в контрольній.

Примітки: * – відмінності між групами за генотипом Gln/Gln статистично значущі (за точним методом Фішера $p=0,041$); # – відмінності між групами за розподілом алелей статистично значущі (за точним методом Фішера $p=0,024$).

МОЗ України (науковий керівник – д-р мед. наук, проф. О.С. Ларін).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Розподіл частот генотипів поліморфізму rs1137101 гена LEPR у групі випадків і контрольній групі наступний: Gln223Gln – 0,282 і 0,170; Gln223Arg – 0,582 і 0,600; Arg223Arg – 0,136 і 0,230, відповідно (рис. 1).

Отримані дані відповідали закону розподілу Харді-Вайнберга для випадків ($\chi^2=3,730$, $df=1$, $p=0,162$) і контролів ($\chi^2=4,175$, $df=1$, $p=0,129$).

Аналіз розподілу частот генотипів виявив статистично значущий приріст (в 1,66 раза; $p(\text{Fet})=0,041$) частоти генотипу Gln223Gln у групі випадків порівняно з контролем. Частоти генотипів Gln223Arg та Arg223Arg статистично значуще не відрізнялися.

Таблиця 1

Вплив генотипів та алелей поліморфізму rs1137101 (Gln223Arg) гена LEPR на розвиток ЦД 2 типу

Генотипи	Випадки	Контроль	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		
Gln	118	94	1,512	1,022–2,237	4,299	0,039
Arg	88	106	0,661	0,447–0,978		

Вплив генотипів та алелей поліморфізму rs1137101 (Gln223Arg) гена LEPR на розвиток ожиріння при ЦД 2 типу

Генотипи	IMT >30 (n=52) n / %	IMT ≤30 (n=51) n / %	OR	CI – 95%	χ ²	p
Gln/Gln	19/36,5	10/19,6	2,361	0,967-5,762	5,422	0,069
GLN/ARG	29/55,8	31/60,8	0,813	0,371-1,783		
ARG/ARG	4/7,70	10/19,6	0,342	0,100-1,171		
Gln	67/64,4	51/50,0	1,811	1,036-3,165	4,378	0,038
Arg	37/35,6	51/50,0	0,552	0,316-0,965		

Алельні частоти поліморфізму rs1137101 гена LEPR у групі випадків та в контролі розподілилися таким чином: 223Gln – 0,573 і 0,470; 223Arg – 0,427 і 0,530, відповідно (рис. 1). У групі випадків була виявлена статистично значуща більша частота алеля 223Gln (у 1,2 раза) і нижча частота алеля Arg (у 1,2 раза) з показником $p(\text{Fet})=0,024$.

Таблиці спряженості не показали статистично значущої асоціації генотипів поліморфізму rs1137101 гена LEPR з розвитком ЦД 2 типу, тоді як аналіз впливу алелей показав статистично значущу асоціацію розподілу алелей з наявністю захворювання: $\chi^2=4,299$; $df=1$; $p=0,039$ (табл. 1).

За наявністю алеля 223Gln збільшувався ступінь асоціації із захворюванням у 1,5 раза ($OR=1,512$; $CI=1,022-2,237$; $p=0,039$), а присутність в генотипі алеля 223Arg знижувала ступінь асоціації у 1,5 раза ($OR=0,661$; $CI=0,447-0,978$; $p=0,039$).

Дисперсійний аналіз виявив вплив алеля 223Gln поліморфізму rs1137101 гена LEPR на більш високі значення порівняно з алелем 223Arg $IMT (26,29 \pm 0,81 \text{ кг/м}^2 \text{ проти } 30,32 \pm 0,68 \text{ кг/м}^2; F=7,51; p=0,003)$ та вмісту лептину в крові ($87,27 \pm 7,52 \text{ нг/мл}$ проти $105,58 \pm 10,25 \text{ нг/мл}; F=6,59; p=0,006$). Такі зміни традиційно асоціюються з ожирінням у хворих на ЦД 2 типу [3, 9].

Численні дані [3, 6, 7, 9, 10] показують, що поліморфізм rs1137101 супроводжується порушенням структури і функції рецептора лептину і гальмує його експресію з порушенням проведення гормонального сигналу. За нашими даними, присутність в генотипі алеля 223Gln сприяє більш високим значенням IMT та вмісту лептину в крові.

Для оцінки впливу поліморфізму rs1137101 гена LEPR на розвиток ожиріння у пацієнтів з ЦД 2 типу окремо було проаналізовано розподіл генотипів та алелей за наявності ожиріння ($IMT >30 \text{ кг/м}^2$) та при

нормальній або надмірній масі тіла ($IMT \leq 30 \text{ кг/м}^2$). Як відображено в табл. 2, за наявності ожиріння у пацієнтів із ЦД 2 типу майже вдвічі частіше виявлявся генотип Gln223Gln (36,5% проти 19,6% у пацієнтів без ожиріння; $p(\text{Fet})=0,045$).

Частоти гетерозиготного генотипу Gln223Arg статистично значуще не відрізнялися, а частота мінорного гомозиготного генотипу Arg223Arg у пацієнтів з ожирінням була у 2,5 раза рідше (7,7% проти 19,6% у пацієнтів без ожиріння; $p(\text{Fet})=0,025$). Залежності розподілу генотипів від наявності або відсутності ожиріння не виявлено ($p(\chi^2)=0,069$) за умов відповідності до розподілу Харді-Вайнберга (HWE) даних по групах, які було виділено за значенням IMT ($\chi^2=2,404$; $df=1$; $p=0,308$ для групи з $IMT >30$ та $\chi^2=2,373$; $df=1$, $p=0,319$ для групи з $IMT \leq 30$).

Як показала оцінка розподілу алелей поліморфізму rs1137101 гена LEPR, між групами була виявлена статистично значуща різниця: у групі з $IMT >30$ алель 223Gln спостерігався у 64,4% пацієнтів, тоді як у групі з $IMT \leq 30$ – у 50%. Алель 223Arg у групі з ожирінням зустрічався значно рідше (у 35,6% проти 50% у групі без ожиріння). Ця різниця була статистично значущою ($p(\chi^2)=0,038$). Тобто, можна було стверджувати, що за наявності ожиріння у пацієнтів з ЦД 2 типу алель 223Gln зустрічався значно (у 1,3 раза) частіше, а мінорний алель 223Arg – рідше (у 1,4 раза). Відповідно, можна було стверджувати, що алель 223Gln є асоційованим з наявністю ожиріння при ЦД 2 типу та $IMT >30$, а ризик розвитку ожиріння у таких хворих підвищений у 1,8 раза ($OR=1,811$; $CI=1,036-3,165$; $p(\chi^2)=0,038$).

Отже, результати роботи показали, що поліморфізм rs1137101 гена LEPR є фактором генетичного ризику для ЦД 2 типу й одночасно сприяє розвитку ожиріння у таких хворих.

ВИСНОВКИ

1. При ЦД 2 типу виявлена більша частота генотипу Gln/Gln порівняно з контрольною групою (у 1,65 раза; $p(\text{Fet})=0,041$). Відповідно, алель 223Gln виявлявся частіше, а алель 223Arg – рідше (у 1,2 раза порівняно з контролем; $p(\text{Fet})=0,024$). У носіїв алеля 223Gln ризик розвитку ЦД 2 типу збільшений у 1,5 раза, тоді як присутність алеля 223Arg знижує ризик захворювання у 1,5 раза ($p=0,039$).
2. Наявність алеля 223Gln сприяє прогресуванню ожиріння та гіперлептинемії при ЦД 2 типу. Ризик розвитку ожиріння у таких хворих підвищений у 1,8 раза.

ЛІТЕРАТУРА

1. Инсулиновая резистентность и роль гормонов жировой ткани в развитии сахарного диабета / И.И. Дедов, М.И. Балаболкин, Г.Г. Мамаева и др. // Пособие для врачей. – М., 2005. – 88 с.
2. Маньковский Б.Н. Распространенность невыявленного сахарного диабета 2 типа и предиабета в Украине: результаты эпидемиологического исследования «ДИАПАЗОН» // Диабет. Ожирение. Метаболический синдром. – 2014. – Т. 3, № 5. – С. 70–75.
3. 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.
4. Fan S.H. Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and their association with plasma leptin levels and obesity in a multi-ethnic Malaysian suburban population / S.H. Fan, Y.H. Say // J. Physiol. Anthropol. – 2014. – Vol. 33 (1). – P. 15. doi: 10.1186/1880-6805-33-15.
5. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. / G. Fantuzzi // J. Allergy and Clinical Immunology. – 2006. – Vol. 115, № 5. – P. 911–919.
6. 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.
7. 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.
8. Global status report on non-communicable diseases 2014 / WHO. – Geneva: World Health Organization, 2014. – 298 p.
9. IGF2, LEPR, POMC, PPARG, and PPARGC1 gene variants are associated with obesity-related risk phenotypes in Brazilian children and adolescents // E.M. Queiroz, A.P.C. Cândido, I.M. Castro et al. // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2015. – Vol. 48 (7). – P. 595–602.
10. Interaction of dietary fat intake with APOA2, APOA5 and LEPR polymorphisms and its relationship with obesity and dyslipidemia in young subjects / T. Domínguez-Reyes, C.C. Astudillo-López, L. Salgado-Goytia et al. // Lipids Health Dis. – 2015. – Vol. 14. – P.106. doi: 10.1186/s12944-015-0112-4.
11. LEPR leptin receptor [Homo sapiens (human)] // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
12. The Q223R polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders / T. Furusawa, I. Naka, T. Yamauchi et al. // Hum. Genet. – 2010. – Vol. 127 (3). – P. 287–294. doi: 10.1007/s00439-009-0768-9.

РЕЗЮМЕ

Зв'язок поліморфних варіантів гена рецептора лептину з розвитком цукрового діабету 2 типу та ожиріння**С.В. Зяблицев, О.С. Ларін, П.А. Чернобривцев, М.В. Зяблицева**

Мета роботи – вивчення значення поліморфізму rs1137101 гена LEPR у розвитку цукрового діабету 2 типу та його впливу на розвиток ожиріння у таких хворих.

Матеріали та методи. Досліджено 103 пацієнти з діагнозом цукрового діабету 2 типу, які мали клінічно виражені ускладнення. Контрольну групи склали 100 практично здорових осіб у відповідному віці. Аналіз поліморфних ДНК-локусів здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (TaqMan® SNP Genotyping Assay). У крові визначали вміст лептину (DRG International Inc., США).

Результати та обговорення. Результати показали, що алельний поліморфізм rs1137101 (Gln223Arg) гена LEPR був асоційований з розвитком цукрового діабету 2 типу: алель 223Gln підвищує у 1,5 раза, а алель 223Arg – знижує у 1,5 раза ($p=0,039$) ризик його розвитку. Наявність алеля 223Gln у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу сприяє розвитку ожиріння та його проявів, а саме – більш високим значенням індексу маси тіла ($26,29 \pm 0,81$ кг/м² проти $30,32 \pm 0,68$ кг/м²; $F=7,51$; $p=0,003$) та вмісту лептину

в крові ($87,27 \pm 7,52$ нг/мл проти $105,58 \pm 10,25$ нг/мл; $F=6,59$; $p=0,006$). Алель 223Gln є асоційованим з наявністю ожиріння при цукровому діабеті 2 типу та $IMT >30$ кг/м². У носіїв алеля 223Gln ризик розвитку ожиріння підвищений у 1,8 раза ($OR=1,811$; $CI=1,036-3,165$; $p(\chi^2)=0,038$).

Висновки. Поліморфізм rs1137101 гена LEPR є фактором генетичного ризику для цукрового діабету 2 типу й одночасно сприяє розвитку ожиріння в таких хворих.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, ожиріння, ген рецептора лептину (LEPR), rs1137101.

РЕЗЮМЕ

Связь полиморфных вариантов гена рецептора лептина с развитием сахарного диабета 2 типа и ожирения

С.В. Зяблицев, А.С. Ларин, П.А. Чернобривцев, М.В. Зяблицева

Цель работы – изучение связи полиморфизма rs1137101 гена LEPR в развитии сахарного диабета 2 типа и его влияния на развитие ожирения у этих больных.

Материалы и методы. Обследовано 103 пациента с диагнозом сахарного диабета 2 типа, которые имели клинически выраженные осложнения. Контрольную группу составили 100 практически здоровых человек соответствующего возраста. Анализ полиморфных ДНК-локусов осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (TaqMan® SNP Genotyping Assay). В крови определяли содержание лептина (DRG International Inc., США).

Результаты и обсуждение. Результаты показали, что аллельный полиморфизм rs1137101 (Gln223Arg) гена LEPR был ассоциирован с развитием сахарного диабета 2 типа: аллель 223Gln повышает в 1,5 раза, а аллель 223Arg – снижает в 1,5 раза ($p=0,039$) риск его развития. Наличие аллели 223Gln у больных с сахарным диабетом 2 типа способствует развитию ожирения и его проявлений, а именно – более высоким значениям индекса массы тела ($26,29 \pm 0,81$ кг/м² против $30,32 \pm 0,68$ кг/м²; $F=7,51$; $p=0,003$) и уровня в крови лептина ($87,27 \pm 7,52$ нг/мл против $105,58 \pm 10,25$ нг/мл; $F=6,59$; $p=0,006$). Аллель 223Gln ассоциирована с ожирением при сахарном диабете 2 типа при $IMT >30$ кг/м². У носителей аллели

223Gln риск развития ожирения повышен в 1,8 раза ($OR=1,811$; $CI=1,036-3,165$; $p(\chi^2)=0,038$).

Выводы. Полиморфизм rs1137101 гена LEPR является фактором генетического риска для сахарного диабета 2 типа и в то же время способствует развитию ожирения у этих больных.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, ожирение, ген рецептора лептина (LEPR), rs1137101.

SUMMARY

Influence of polymorphic variants of the leptin gene receptor on diabetes mellitus 2 type and obesity

S.V. Ziablitsev, A.S. Larin, P.A. Chernobrivtsev, M.V. Ziablitseva

The aim of this work is to study the role of LEPR gene polymorphism rs1137101 on the development of diabetes mellitus type 2 and its influence in developing obesity in these patients.

Materials and methods. 103 patients with type 2 diabetes clinical complications were evaluated. The control group comprised of 100 people of corresponding age without diabetes and obesity. The analysis of DNA loci polymorphism was carried out by the method of polymerase chain reaction in real time (TaqManR SNP Genotyping Assay). Blood leptin was determined (DRG International Inc., USA).

Results and discussion. Results showed that allelic polymorphism rs1137101 (Gln223Arg) of LEPR gene had been associated with the development of diabetes mellitus type 2: allele 223Gln promotes 1.5 times, and allele 223Arg – reduces 1.5 times ($p=0,039$) the risk for developing type 2 diabetes. The presence of allele 223Gln in patients with type 2 diabetes assists in developing obesity, specifically – higher values of body mass index ($26,29 \pm 0,81$ kg/m² in comparison to $30,32 \pm 0,68$ kg/m²; $F=7,51$; $p=0,003$) and leptin blood level ($87,27 \pm 7,52$ ng/ml in comparison to $105,58 \pm 10,25$ ng/ml; $F=6,59$; $p=0,006$). Allele 223Gln is associated with obesity in diabetics with $BMI >30$ kg/m². In carriers of allele 223Gln the risk of developing obesity is 1,8 times higher ($OR=1,811$; $CI=1,036-3,165$; $p(\chi^2)=0,038$).

Conclusions. Polymorphism rs1137101 of LEPR gene is a genetic risk factor for diabetes mellitus type 2 and promotes development of obesity in these patients.

Key words: diabetes mellitus type 2, obesity, LEPR, rs1137101.

Дата надходження до редакції 11.05.2016 р.