

## ВПЛИВ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ ЛЕПТИНУ LEP-2548G>A (rs7799039) ТА РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНУ LEPR 223Q>R (rs1137101) НА РОЗВИТОК СЕРЦЕВО-СУДИННИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ\*

Плохотніченко О. О.<sup>1</sup>, Красова Н. С.<sup>1</sup>, Колеснікова А. О.<sup>1</sup>,  
Горшунська М. Ю.<sup>2</sup>, Почерняев А. К.<sup>1,3</sup>, Мамонтов І. М.<sup>2</sup>, Воропай Т. І.<sup>1</sup>,  
Романова І. П.<sup>1</sup>, Караченцев Ю. І.<sup>1,4</sup>, Полтораєв В. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,  
м. Харків, Україна;

<sup>2</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, м. Харків, Україна;

<sup>3</sup> Полтавський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр, м. Полтава, Україна;

<sup>4</sup> Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна  
[oplokhotnichenko@bigmir.net](mailto:oplokhotnichenko@bigmir.net)

Цукровий діабет (ЦД) 2 типу — комплексна метаболічна хвороба, для якої доведений зв'язок з рядом чинників ризику атеросклерозу. В першу чергу, це класичні чинники, до яких належать дисліпідемія, кров'яний тиск та паління. Однак, оскільки цей кластер пояснює лише близько 25 % надлишку серцево-судинного ризику, увагу дослідників привертають так звані некласичні чинники, до яких належать гі-

перглікемія, оксидативний стрес, гіпертригліцеридемія, коагулопатія, вісцеральне ожиріння, ендотеліальна дисфункція, хронічне запалення низької інтенсивності та інсулінорезистентність [1]. Тісний зв'язок між ЦД 2 типу та серцево-судинними захворюваннями призвів до гіпотези загального підґрунтя, припускаючи, що обидві патології мають спільні генетичні та екологічні фактори, які впливають на цю асо-

\* Роботу виконано в рамках договору про сумісну наукову діяльність між ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», Харківською медичною академією післядипломної освіти та Національним інститутом охорони громадського здоров'я та екології (м. Білтховен, Нідерланди) (узгодження б/н RIVM від 18.10.2008 р.) «Адипоцитокіни та патерн чутливості до інсуліну у хворих на цукровий діабет 2 типу, що лікувалися n-3 поліненасиченими жирними кислотами» та в рамках фундаментальної НДР (2019–2021 рр.) ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» «Визначення функціональної ролі релевантних щодо розвитку цукрового діабету 2 типу однонуклеотидних поліморфізмів генів-кандидатів в реалізації гормонально-метаболічних ефектів фармакологічних чинників» (номер держреєстрації 0119U002135).

Установою, що фінансує дослідження, є НАМН України.

Автори гарантують колективну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості.

Рукопис надійшов до редакції 20.10.2022.

ціацію [2]. Однак, хоча загальні фактори ризику як судинних захворювань, так і ЦД 2 типу, такі як ожиріння, інсулінорезистентність, дисліпідемія, запалення та тромбофілія, можна ідентифікувати у більшості хворих, менш відомо про те, як ці фактори обумовлені генетичною складовою, тож для більш повного розуміння цього взаємозв'язку все ще потрібні зусилля [3].

У зв'язку з цим триває пошук функціональних одонуклеотидних поліморфізмів (ОНП) генів, здатних впливати на ризик розвитку ожиріння, ЦД 2 типу та асоційованих судинних ускладнень, і нашу увагу привернули ген лептину та ген його рецептора у хворих на ЦД 2 типу східноєвропейської популяції.

Окремі клінічні дослідження показали, що пацієнти з підвищеною концентрацією лептину мають високий ризик інфаркту міокарда та інсульту [4]. Крім того, гіперлептинемія асоційована з протромботичними ефектами, ендотеліальною дисфункцією та кардіоваскулярним ремоделюванням; доведено, що лептин регулює скоротливу функцію кардіоміоцитів, їх метаболізм, розмір клітин та синтез позаклітинних компонентів матриксу [5]. Нарешті було доведено, що лептин шляхом стимуляції симпатичної нервової системи відіграє важливу роль у розвитку гіпертензії [6]. Ці клінічні спостереження чітко підтримують гіпотезу, що лептин може брати участь у патофізіології ішемічної хвороби серця (ІХС).

Поліморфізм гена *LEP*, розташованого на довгому плечі 7-ї хромосоми, який було обрано нами для вивчення в українській популяції, пов'язаний із заміною аденіну гуаніном в положенні 2548 в промоторній

зоні гену (*rs7799039*), що може призводити до зміни активності лептину [7]. З іншого боку, лептин реалізує свою активність через специфічний трансмембранний рецептор, присутній у мембранах широкого кола клітин різноманітних тканин. Рецептор лептину кодується геном *LEPR*, який розташований на 1p31.3, містить 24 екзони та має декілька альтернативних варіантів сплайсингу включно з розчинною формою рецептору, а також описано ряд мутацій та ОНП в областях гену, що кодують або не кодують продукт [8]. Деякі з цих варіантів впливають на функцію рецептору та різним чином призводять до зниження активності трансдукції сигналу. Мутація  $A > G$  (*rs1137101*) в 6-му екзоні *LEPR*, що реалізується в заміні глутаміна на аргінін у положенні білка 223 ( $223Q > R$ ), інтенсивно досліджується останнім часом в різних популяціях. Цей поліморфізм пов'язаний в окремих дослідженнях, серед іншого, з розвитком таких порушень, як патологічний стан жирової тканини та ожиріння [9], ЦД 2 типу [10] та атеросклероз [11]. В наших попередніх дослідженнях була доведена функціональна значущість вказаних поліморфізмів для хворих на ЦД 2 типу східно-української популяції відносно терапевтичної ефективності препарату поліненасичених жирних кислот [12].

Метою даного дослідження стало оцінити вплив одонуклеотидних поліморфізмів гена лептину *LEP* -2548G/A та рецептора лептину *LEPR* 223Q/R на ризик розвитку серцево-судинних ускладнень у хворих на цукровий діабет 2 типу східно-української популяції з плином часу.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження було проведено відповідно до етичних та морально-правових вимог Статуту Української асоціації з біоетики та норм GCP (1992 р.), GLP (2002 р.), принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини та ухвалено Комітетом з медичної етики при ДУ ІПЕП ім. В. Я. Данилевського НАМНУ. Для реалізації поставленої мети було оцінено стан пацієнтів

з ЦД 2 типу при первинному обстеженні та через 10 років після першого звернення. За цей час в досліджуваній групі ( $n = 60$ ) зареєстровано 5 нелетальних інфарктів та 16 летальних випадків внаслідок серцево-судинного захворювання.

У вихідному стані було обстежено 60 хворих на ЦД 2 типу з підтвердженням згідно встановлених вимог діагнозом (ж/ч: 26/34, клініка ДУ ІПЕП ім. В. Я. Данилевсько-

го НАМНУ) віком  $53,35 \pm 1,38$  років, тривалістю ЦД 2 типу  $5,33 \pm 0,67$  років, рівнем глікозильованого гемоглобіну ( $HbA_{1c}$ )  $7,74 \pm 0,19$  %, з індексом маси тіла (ІМТ)  $33,28 \pm 0,89$  кг/м<sup>2</sup>, зі співвідношенням обсягу талії до обсягу стегон  $0,99 \pm 0,01$ , з наявністю ІХС у 34 випадках, гіпертонічної хвороби — у 49, їх сполучення — у 33. У 59 осіб спостерігалися мікроангіопатії (у 43 — полінейропатії, у 49 — ретино-, у 1 — кардіо- та у 10 — нефропатія).

Хворим проводилось загальне клінічне обстеження, а також детальне обстеження з метою виявлення судинної патології, характерної для ЦД та асоційованої із ним. Визначення ряду біохімічних та гормональних показників було виконано на базі Національного Інституту охорони здоров'я та довкілля м. Більтховен, Нідерланди, в межах наукового співробітництва. Інсулінорезистентність (ІР) характеризували за індексом НОМА-ІР [13] та індексом НОМА-ІР/адипонектин [14], функцію панкреатичних  $\beta$ -клітин оцінювали за індексом НОМА-ВСФ. Чутливість до інсуліну оцінювали за індексами QUICKI [15] та адипонектин/лептин [16]. Інсулінорезистентність жирової тканини характеризували за індексом НОМА-ІР/лептин та Adipo-ІР [17].

ДНК з лейкоцитів екстрагували за використанням іонообмінної смоли Chelex-100.

Оцінювали ОНП генів лептину *LEP*-2548G > A (*rs7799039*) та рецептора лептину *LEPR* 223Q > R (223G > A) (*rs1137101*). Генотипування проводили за методом полімеразної ланцюгової реакції та поліморфізму довжин рестриктних фрагментів з використанням відповідних праймерів (*LEP* 2548G>A: прямий: tcccatgagaactattcttcttttg; зворотній: atatggctccctttgcccgaacc; *LEPR* 223G > A: прямий: acctctggttccccaataaag; зворотній: tcatacttttagtcataacttacc) та ендонуклеаз (*HhaI* і *MspI* відповідно).

Продукти рестрикції проаналізували за допомогою електрофорезу в 2% агарозному гелі. Як маркер молекулярної маси використали ДНК рUC19, гідролізовану ендонуклеазою *MspI* (МБІ Fermentas, Литва).

Нормальність розподілу змінних визначили за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Застосовували непарний та парний двобічний *t*-критерій Стьюдента, критерій Манна-Уїтні та критерій  $\chi^2$ . Перевірка нульових гіпотез проведена на рівні значущості  $P \leq 0,05$ . За умов нормального розподілу даних, вони наведені у вигляді середніх арифметичних значень із статистичною похибкою, окремі дані наведено у вигляді медіани та 25-ї і 75-ї перцентилі.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ретроспективна оцінка біохімічних параметрів після розподілу за генотипами досліджуваного поліморфізму гену лептина

показала, що немає статистично значущих розбіжностей у рівнях лептину або ІМТ між групами хворих на ЦД 2 типу. Серед до-

Таблиця 1  
Аналіз зв'язку поліморфізму *LEP*-2548 G/A з судинними ускладненнями у жінок з цукровим діабетом 2 типу

Судинне ускладнення	Статистичний параметр			
	R	R <sup>2</sup>	F	P
Серцева недостатність	<b>0,50</b>	0,25	3,87	<b>0,04</b>
Ішемічна хвороба серця	0,20	0,04	0,48	0,63
Гіпертонічна хвороба	0,23	0,05	0,63	0,54
Ретинопатія	0,34	0,11	1,47	0,25
Нефропатія	0,23	0,05	0,63	0,54

Примітки:

R — коефіцієнт кореляції; R<sup>2</sup> — коефіцієнт детермінації; F — критерій Фішера; P — рівень значущості; нейропатія наявна у всіх жінок, тому порівняння не проводилося.

сліджених параметрів ІР статистичної значущості досяг лише показник резистентності до інсуліну жирової тканини Adipo-IR. Так, спостерігалось його суттєве зниження у групі осіб з гомозиготним по А-алелю генотипом ( $65,95 \pm 9,68$  проти  $107,11 \pm 9,45$  у GA та  $101,08 \pm 13,66$  у GG,  $P < 0,05$ ). Але це супроводжувалося значним зростанням показників хронічного запального процесу в цій групі. А саме: було збільшено рівні фактору некрозу пухлин альфа ( $4,64$  нг/л ( $2,18; 6,76$ ) нг/л проти  $1,41$  нг/л ( $0,92; 4,20$ ) нг/л та  $1,15$  нг/л ( $0,94; 1,88$ ) нг/л у GA та GG відповідно,  $P < 0,05$ ) та інтерлейкіну-6 ( $9,90$  нг/л ( $7,79; 10,69$ ) нг/л проти  $6,10$  нг/л ( $4,78; 10,39$ ) нг/л та  $6,35$  нг/л ( $5,09; 9,19$ ) нг/л у GA та GG відповідно,  $P < 0,05$ ).

У зв'язку з наявністю статевого диморфізму лептину (його фізіологічно більших рівнів у жінок) [4] аналіз за ОНП LEP

-2548G > A було проведено окремо для жінок і чоловіків. Було виявлено, що у жінок, хворих на ЦД 2 типу, даний поліморфізм із статистичною вірогідністю пов'язаний з розвитком серцевої недостатності (табл. 1).

В подальшому, при розрахунку критерію  $\chi^2$  були підтверджені наявність і статистична значущість розбіжностей в розподілі генотипів залежно від наявності і прогресування захворювання. Визначено, що А-алель за LEP-2548 G/A суттєво підвищує ризик розвитку серцевої недостатності у жінок з ЦД 2 типу (табл. 2).

Після оцінки кореляційних зв'язків поліморфізму LEP-2548 G/A з наявністю судинних ускладнень у чоловіків, було встановлено його статистично вірогідну асоціацію з розвитком серцевої недостатності та ІХС з плином часу (табл. 3).

Таблиця 2

**Розподіл генотипів за поліморфізмом LEP-2548 G/A у жінок з цукровим діабетом 2 типу за урахуванням наявності/відсутності серцевої недостатності**

Наявність/ ступінь серцевої недостатності	Генотип, n			Статистика для частот генотипів		
	AA	AG	GG	-2548 G/A проти серцевої недостатності	AA проти AG	AG проти GG
СН0, n = 4	2	0	2	$\chi^2 = 17,64$ $\chi^2_{st} = 13,27$ p = 0,002	$\chi^2 = 7,29$ p = 0,027	$\chi^2 = 18,00$ p < 0,001
СН1, n = 14	2	12	0			
СН2, n = 8	4	4	0			

Примітки:

СН0 — відсутність захворювання, СН1 та СН2 — відповідні ступені прогресування;  $\chi^2$  і  $\chi^2_{st}$  — фактичне і порогове значення критерію; P — рівень значущості.

Таблиця 3

**Аналіз зв'язку поліморфізму LEP-2548 G/A з судинними ускладненнями у чоловіків з цукровим діабетом 2 типу**

Судинне ускладнення	Статистичний параметр			
	R	R <sup>2</sup>	F	P
Серцева недостатність	<b>0,56</b>	0,32	7,13	<b>0,003</b>
Шемічна хвороба серця	<b>0,46</b>	0,21	4,06	<b>0,03</b>
Гіпертонічна хвороба	0,37	0,13	2,23	0,12
Ретинопатія	0,22	0,05	0,73	0,49
Нейропатія	0,30	0,09	1,43	0,25

Примітки:

R — коефіцієнт кореляції; R<sup>2</sup> — коефіцієнт детермінації; F — критерій Фішера; P — рівень значущості; нефропатія відсутня у всіх чоловіків, тому порівняння не проводилося.

Розподіл генотипів за поліморфізмом *LEP-2548 G/A* у чоловіків з цукровим діабетом 2 типу за урахуванням наявності/відсутності серцевої недостатності

Наявність/ ступінь серцевої недостатності	Генотип, n			Статистика для частот генотипів		
	AA	AG	GG	-2548 G/A проти серцевої недостатності	AA проти GG	AG проти GG
CH0 n = 8	0	6	2	$\chi^2 = 11,04$ $\chi^2_{st} = 9,49$ p = 0,027	$\chi^2 = 8,0$ p = 0,02	$\chi^2 = 9,02$ p = 0,01
CH1 n = 18	2	16	0			
CH2 n = 8	0	4	4			

Примітки:

CH0 — відсутність захворювання, CH1 та CH2 — відповідні ступені прогресування;  $\chi^2$  і  $\chi^2_{st}$  — фактичне і порогове значення критерію; P — рівень значущості.

Розподіл генотипів за поліморфізмом *LEP-2548 G/A* у хворих на цукровий діабет 2 типу за урахуванням виживаності/смертності пацієнтів

Група	Алель		Статистика для частот алелей	Генотип, (%)			Статистика для частот генотипів
	A	G		AA	GA	GG	
Вижили n = 41	0,43	0,57	$\chi^2 = 21,2$ $\chi^2_{st} = 3,84$ p = 0,001	2 (5)	34 (77)	8 (18)	$\chi^2 = 18,7$ $\chi^2_{st} = 5,99$ p = 0,01
Померли n = 16	0,75	0,25 (гіпотетично)		8 (50)	8 (50)	0 (0)	

Примітки:

$\chi^2$  і  $\chi^2_{st}$  — фактичне і порогове значення критерію; P — рівень значущості.

Після аналізу розподілу генотипів за поліморфізмом *LEP-2548 G/A* у чоловіків з ЦД 2 типу з урахуванням летальних серцево-судинних подій виявлено, що за ризик виникнення серцевої недостатності (табл. 4) та ІХС (P=0,03) відповідає А-алель. В зв'язку з цим слід відзначити спостережену в інших популяціях асоціацію мінорного А-алеля з гіперглікемією [18] та артеріальною гіпертензією [19] у осіб з надлишковою масою тіла та ожирінням.

Було проаналізовано вплив генотипу за *LEP-2548 G/A* на виживаність, пов'язану з серцево-судинними захворюваннями, та проведено розрахунок відношення шансів для відповідних генотипів. Було виявлено, що генотип AA суттєво підвищує ризик смертності (табл. 5): OR (AA) = 21,00; ДІ 3,75-117,76, P < 0,05. Генотип GA, навпаки, має захисний (протективний) ефект та завдяки наявності G-алеля знижує ризик

смертності майже втричі: OR (GA) = 0,29; ДІ 0,088–0,984, P < 0,05.

Відомо, що лептин реалізує свою активність через специфічний трансмембранний рецептор, присутній у мембранах широкого кола клітин різноманітних тканин [8]. Досліджений нами поліморфізм гена рецептору реалізується в мутацію, розташовану у домені, який відповідає за високоафінну взаємодію з лептином. Не було визначено статистично значущих розбіжностей у рівнях циркулюючого лептину або ІМТ між групами хворих на ЦД 2 типу з різними генотипами за даним поліморфізмом. Однак серед досліджених параметрів статистичної значущості досягли такі гормональні показники резистентності до інсуліну, як співвідношення НОМА-IR/адипонектин та НОМА-IR/лептин. А саме, спостерігалися їх суттєво нижчі рівні у групі осіб з гомозиготним по домінантному А-алелю генотипом (НОМА-

Розподіл генотипів за поліморфізмом *LEPR 223Q > R* у хворих на цукровий діабет 2 типу за урахуванням наявності/відсутності серцевої недостатності

Наявність/ ступінь серцевої недостатності	Генотип, n			Статистика для частот генотипів		
	QQ	QR	RR	223Q > R проти серцевої недостатності	QQ проти QR	RR проти QR
СН0, n = 10	0	10	0	$\chi^2 = 26,9$ $\chi^2_{st} = 13,27$ p = 0,01	$\chi^2 = 22,18$ p = 0,001	$\chi^2 = 11,02$ p = 0,005
СН1, n = 24	2	14	8			
СН2, n = 18	10	2	6			

Примітки:

СН0 — відсутність захворювання, СН1 та СН2 — відповідні ступені прогресування;  $\chi^2$  і  $\chi^2_{st}$  — фактичне і порогове значення критерію; P — рівень значущості.

Розподіл генотипів за поліморфізмом *LEPR 223Q > R* у чоловіків з цукровим діабетом 2 типу за урахуванням наявності/відсутності серцевої недостатності

Наявність/ ступінь серцевої недостатності	Генотип, n			Статистика для частот генотипів		
	QQ	QR	RR	223Q > R проти серцевої недостатності	QQ проти QR	RR проти QR
СН0, n = 8	0	8	0	$\chi^2 = 19,07$ $\chi^2_{st} = 13,27$ p = 0,001	$\chi^2 = 18,17$ p = 0,001	$\chi^2 = 10,79$ p = 0,005
СН1, n = 14	2	10	2			
СН2, n = 8	6	0	2			

Примітки:

СН0 — відсутність захворювання, СН1 та СН2 — відповідні ступені прогресування;  $\chi^2$  і  $\chi^2_{st}$  — фактичне і порогове значення критерію; P — рівень значущості.

IR/адипонектин: (0,91 ± 0,21) ум. од. проти (2,28 ± 0,59) ум. од. та (1,16 ± 0,22) ум. од. у AG та GG відповідно, P < 0,05; НОМА-IR/лептин: (0,09 ± 0,02) ум. од. проти (0,18 ± 0,03) ум. од. та (0,11 ± 0,02) ум. од. відповідно, P < 0,05).

Аналіз розподілу генотипів свідчить про наявність зв'язку між поліморфізмом гена рецептора лептина *LEPR 223Q > R* та захворюваністю на серцеву недостатність (табл. 6), а розбіжності, що спостерігаються між групами, можуть бути обумовлені переважанням гетерозигот, зокрема в групі без ускладнення наявні лише гетерозиготи. З вищенаведеного можна зробити висновки, що гетерозиготний генотип за ОНП *LEPR 223Q > R (A/G)* має захисний характер відносно розвитку серцевої недостатності у хворих на ЦД 2 типу. Після аналізу з розподілом за статтю виявилось, що подібний ефект зберігає статистичну значу-

щість лише для групи чоловіків (табл. 7), тоді як для жінок цей параметр не сягає статистичної значущості.

Розподіл генотипів за поліморфізмом *LEPR 223Q>R* у хворих на ЦД 2 типу за урахуванням виживаності/смертності пацієнтів довів, що генотип *RR* суттєво підвищує ризик смертності: OR (*RR*) = 5,00; ДІ 1,343-18,62, P<0,05.

Таким чином, проведено дослідження в східно-українській популяції хворих на ЦД 2 типу функціональної значущості ОНП гена лептину та рецептора до лептину довело їх суттєвий вплив на ризик розвитку серцево-судинних ускладнень та пов'язану з цим смертність. Отримані дані щодо поліморфних варіантів генів лептину та рецептора до лептину можуть бути використані для формування груп ризику як підґрунтя своєчасної профілактики та ефективної терапії.

## ВИСНОВКИ

1. Визначено, що однонуклеотидний поліморфізм *LEP -2548 G/A (rs7799039)* суттєво впливає на розвиток серцево-судинних ускладнень у хворих на цукровий діабет 2 типу в східно-українській популяції, а саме, мінорний алель *A* пов'язаний з підвищеним ризиком розвитку серцевої недостатності у жінок і серцевої недостатності та ішемічної хвороби серця у чоловіків.
2. Доведено, що наявність гетерозиготного генотипу за поліморфізмом *LEPR 223Q/R (A/G) (rs1137101)* пов'язана з меншим ризиком розвитку серцевої недостатності у чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу східно-української популяції.
3. Мінорні генотипи за поліморфізмами *LEP -2548 G/A* та *LEPR 223Q/R (A/G)* суттєво підвищують ризик смертності, пов'язаної з серцево-судинними подіями.
4. Дані відносно досліджених поліморфних варіантів генів лептину та рецептора лептину можуть бути використані для формування груп ризику та враховані під час вибору ефективних профілактичних та терапевтичних стратегій.

ЛІТЕРАТУРА  
(REFERENCES)

1. Leon BM, Maddox TM. *World J Diabetes* 2015;6(13): 1246-1258.
2. Glovaci D, Fan W, Wong ND. *Curr Cardiol Rep* 2019; 21(4): 21. <http://doi.org/10.1007/s11886-019-1107-y>.
3. De Rosa S, Arcidiacono B, Chiefari E, et al. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9(2). <http://doi.org/10.3389/fendo.2018.00002>.
4. Zeng R, Xu CH, Xu YN, et al. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014;58: 817-823.
5. Recinella L, Orlando G, Ferrante C, et al. *Front Physiol* 2020;11: 578966. <http://doi.org/10.3389/fphys.2020.578966>.
6. Katsiki N, Mikhailidis DP, Banach M. *Acta Pharmacol Sin* 2018;39(7): 1176-1188. <http://doi.org/10.1038/aps.2018.40>.
7. Zhang L, Lu M, Yuan L, et al. *Wei Sheng Yan Jiu* 2014; 43(1): 128-132.
8. Consortium T 1000 GP. *Nature* 2012;491: 56-65.
9. Daghestani M, Purohit R, Daghestani M, et al. *PLOS One* 2019;14: e0211381.
10. Yang MM, Wang J, Fan JJ, et al. *J Diabetes Res* 2016; 2016: 5412084.
11. Saukko M, Kasaniemi YA, Ukkola O. *Metab Syndr Relat Disord* 2010;8(5): 425-430.
12. Krasova NS, Karachentsev YuI, Gorshunskaya MYu, et al. *Probl Endokrin Patol* 2021;78(4): 27-33.
13. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. *Diabetologia* 1985;28: 412-419.
14. Matsuhisa M, Yamasaki Y, Emoto M, et al. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;77: 151-154.
15. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85: 2402-2410.
16. Inoue M, Yano M, Yamakado M, et al. *Metabolism* 2006; 55: 1248-1254.
17. Adams-Huet B, Devaraj S, Siegel D, Jialal I. *Metab Syndr Relat Disord* 2014;12(10): 503-507.
18. Sabi EM, Bin Dahman LS, Mohammed AK, et al. *Medicina (Kaunas)* 2022;58(3): 346. <http://doi.org/10.3390/medicina58030346>.
19. Ben Ali S, Kallel A, Ftouhi B, et al. *Blood Press* 2008; 17(5-6): 278-283. <http://doi.org/10.1080/08037050802488960>.

**ВПЛИВ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ ЛЕПТИНУ *LEP*-2548G > A (rs7799039)  
ТА РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНУ *LEPR* 223Q > R (rs1137101)  
НА РОЗВИТОК СЕРЦЕВО-СУДИННИХ УСКЛАДНЕНЬ  
У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

Плохотніченко О. О.<sup>1</sup>, Красова Н. С.<sup>1</sup>, Колеснікова А. О.<sup>1</sup>,  
Горшунська М. Ю.<sup>2</sup>, Почерняев А. К.<sup>1,3</sup>, Мамонтов І. М.<sup>2</sup>, Воропай Т. І.<sup>1</sup>,  
Романова І. П.<sup>1</sup>, Караченцев Ю. І.<sup>1,4</sup>, Полторак В. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,  
м. Харків, Україна;

<sup>2</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України,  
м. Харків, Україна;

<sup>3</sup> Полтавський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр,  
м. Полтава, Україна;

<sup>4</sup> Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна  
oplohotnichenko@bigmir.net

Активно триває пошук функціональних одонуклеотидних поліморфізмів (ОНП) генів, здатних впливати на ризик розвитку ожиріння, цукрового діабету (ЦД) 2 типу та асоційованих судинних ускладнень. Мета дослідження: оцінити вплив ОНП гена лептину *LEP* -2548G/A та рецептора лептину *LEPR* 223Q/R на ризик розвитку серцево-судинних ускладнень у хворих на ЦД 2 типу східно-української популяції з плинном часу.

**Матеріали та методи.** Оцінено стан пацієнтів з ЦД 2 типу при первинному обстеженні та через 10 років після першого звернення. За цей час в досліджуваній групі (n = 60) зареєстровано 5 нелетальних інфарктів та 16 летальних випадків внаслідок серцево-судинного захворювання. У вихідному стані обстежено 60 хворих на ЦД 2 типу (ж/ч: 26/34) віком  $53,35 \pm 1,38$  років, тривалістю діабету  $5,33 \pm 0,67$  років, рівнем  $HbA_{1c}$   $7,74 \pm 0,19$  %, з індексом маси тіла  $33,28 \pm 0,89$  кг/м<sup>2</sup>, зі співвідношенням обсягу талії до обсягу стегон  $0,99 \pm 0,01$ . Генотипування проводили за методом полімеразної ланцюгової реакції та поліморфізму довжин рестриктивних фрагментів з використанням відповідних праймерів (*LEP* -2548G/A: прямий: tccatgagaactattctctttt; зворотній: ataggctcccttgcccgacc; *LEPR* 223Q/R: прямий: acctctggttccsaaaaaag; зворотній: tcatttttagtgataactacc) та ендонуклеаз (*HhaI* і *MspI* відповідно). Продукти рестрикції проаналізували за допомогою електрофорезу в 2% агарозному гелі. Як маркер молекулярної маси використали ДНК рUC19, гідролізовану ендонуклеазою *MspI* (MBI Fermentas, Литва). Застосовували непарний двобічний *t*-критерій Стьюдента, критерій Манна-Уїтні та критерій  $\chi^2$ . Перевірка нульових гіпотез проведена на рівні значущості  $P \leq 0,05$ .

**Результати.** Визначено, що ОНП *LEP*-2548G/A суттєво впливає на розвиток серцево-судинних ускладнень у хворих на ЦД 2 типу в східно-українській популяції, а саме, А-алель пов'язаний з підвищеним ризиком розвитку серцевої недостатності у жінок і серцевої недостатності та ішемічної хвороби серця у чоловіків. Наявність гетерозиготного генотипу за поліморфізмом *LEPR* 223Q/R пов'язана з меншим ризиком розвитку серцевої недостатності у чоловіків, хворих на ЦД 2 типу східно-української популяції. Мінорні генотипи, а саме, AA за поліморфізмом *LEP* -2548G/A та RR за поліморфізмом *LEPR* 223Q/R, суттєво підвищують ризик смертності, пов'язаної з серцево-судинними подіями (OR (AA) = 21,00; ДІ 3,75-117,76,  $P < 0,05$ ; OR (RR) = 5,00; ДІ 1,343-18,62,  $P < 0,05$ , відповідно).

**Висновки.** Доведено функціональну значущість одонуклеотидних поліморфізмів *LEP* -2548 G/A та *LEPR* 223Q/R відносно розвитку серцево-судинних ускладнень у хворих на цукровий діабет 2 типу східно-української популяції. Дані відносно досліджених поліморфних варіантів генів лептину та рецептора лептину можуть бути використані для формування груп ризику та враховані під час вибору ефективних профілактичних та терапевтичних стратегій.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, серцево-судинні ускладнення, лептин, рецептор лептину, одонуклеотидні поліморфізми.

**EFFECT OF LEPTIN LEP-2548G > A (rs7799039)  
AND LEPTIN RECEPTOR LEPR 223Q > R (rs1137101) GENE POLYMORPHIC VARIANTS  
ON THE DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS  
IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS**

O. O. Plohotnichenko<sup>1</sup>, N. S. Krasova<sup>1</sup>, A. O. Kolesnikova<sup>1</sup>,  
M. Yu. Gorshunskaya<sup>2</sup>, A. K. Pochernyaev<sup>1,3</sup>, I. M. Mamontov<sup>2</sup>, T. I. Voropay<sup>1</sup>,  
I. P. Romanova<sup>1</sup>, Yu. I. Karachentsev<sup>1,4</sup>, **V. V. Poltorak<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine»,  
Kharkiv, Ukraine;*

<sup>2</sup> *Kharkiv Medical Academy of postgraduate education of the Ministry of health of Ukraine,  
Kharkiv, Ukraine;*

<sup>3</sup> *Poltava Scientific Research Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine,  
Poltava, Ukraine;*

<sup>4</sup> *Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine  
oplohotnichenko@bigmir.net*

The search for functional single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of genes that affect the risk of obesity, type 2 diabetes mellitus, and associated vascular complications development is actively ongoing. The aim of the study: to evaluate the effect of the leptin *LEP-2548G/A* and the leptin receptor *LEPR 223Q/R* gene SNPs on the risk of cardiovascular complications development in patients with type 2 diabetes mellitus in the Eastern Ukrainian population over time.

**Materials and methods.** Type 2 diabetic (T2D) patients at the initial examination and 10 years later were evaluated. During this time, 5 non-fatal heart attacks and 16 deaths due to cardiovascular disease were registered in the study group (n = 60). At baseline, 60 T2D patients (F/M: 26/34) aged  $53.35 \pm 1.38$  yrs, duration of diabetes  $5.33 \pm 0.67$  yrs, with a HbA1c  $7.74 \pm 0.19\%$ , body mass index  $33.28 \pm 0.89$  kg/m<sup>2</sup>, waist-to-hip ratio  $0.99 \pm 0.01$  were examined. Genotyping was performed by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism using appropriate primers (*LEP 2548G/A*: forward: tcccatgagaactattctttttt; reverse: atatggtccctttgcccgacc; *LEPR 223Q/R*: forward: acctctggttccccaaag; reverse: tcatttttagtgataacttacc) and endonucleases (HhaI and MspI, respectively). Restriction products were analyzed by electrophoresis in a 2% agarose gel. pUC19 DNA hydrolyzed by MspI endonuclease (MBI Fermentas, Lithuania) was used as a molecular weight marker. Unpaired two-tailed Student's t-test, Mann-Whitney test and  $\chi^2$ -test were used; probability (P) value of 5% or less was considered statistically significant.

**Results.** It was determined that SNP *LEP -2548G/A* significantly affects the development of cardiovascular complications in T2D patients in the Eastern Ukrainian population, namely, the A-allele is associated with an increased risk of heart failure in women and heart failure and coronary heart disease in men. The presence of a heterozygous genotype for the *LEPR 223Q/R* polymorphism is associated with a lower risk of heart failure development in T2D men in the Eastern Ukrainian population. Minor genotypes, namely, AA by the *LEP -2548G/A* polymorphism and RR by the *LEPR 223Q/R* polymorphism, significantly increase in the risk of mortality related to cardiovascular events (OR (AA) = 21.00; CI 3.75-117.76, P < 0.05; OR (RR) = 5.00; CI 1.343-18.62, P < 0.05, respectively).

**Conclusions.** The functional significance of single-nucleotide polymorphisms *LEP -2548G/A* and *LEPR 223Q/R* in relation to the development of cardiovascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus in the Eastern Ukrainian population has been proven. Data on the studied polymorphic variants of the leptin and leptin receptor genes can be used to form risk groups and be taken into account when choosing effective preventive and therapeutic strategies.

**Key words:** type 2 diabetes mellitus, cardiovascular complications, leptin, leptin receptor, single nucleotide polymorphisms.