

ФУНКЦІОНАЛЬНА РОЛЬ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ P72R (C>G) ГЕНА TP53 У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ СХІДНОУКРАЇНСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ*

Красова Н. С.¹, Колеснікова А. О.¹, Горшунська М. Ю.², Плохотніченко О. О.¹,
Тижненко Т. В.^{1,2}, Лещенко Ж. А.¹, Гладких О. І.¹, Воропай Т. І.¹, Романова І. П.¹,
Залюбовська О. І.³, Сергієнко Л. Ю.¹, Йенсен Е.⁴, Місюра К. В.¹

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

² Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна,
м. Харків, Україна;

³ Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна;

⁴ Національний інститут громадського здоров'я та навколишнього середовища,
м. Білтховен, Нідерланди
nkrasova@ukr.net

Останнім часом з ризиком розвитку цукрового діабету (ЦД) 1 та 2 типу пов'язують фактори транскрипції стрес-регуляторного шляху, серед яких важливе місце посідає продукт експресії гена-супресора пухлин *TP53*, розташованого у людини на короткому плечі 17-ї хромосоми. Ген *TP53* і кодований ним білок p53 залучені в регуляцію клітинної відповіді на стресорні впливи шляхом зупинки клітинного циклу в контрольних точках для репарації ДНК або індукції апоптозу у разі неможливості усунення її пошкоджень [1]. Поряд з активним дослідженням варіантів гена *TP53* у зв'язку

з ризиком розвитку онкологічних захворювань, з'являються свідчення про те, що пошкодження ДНК та змінені активність білка p53 відіграють вагомий роль у розвитку гіперінсулінемії, гіперглікемії та інсулінорезистентності при ЦД 2 типу в європейських популяціях [2, 3]. Для гена *TP53* виявлено 85 однонуклеотидних поліморфізмів (ОНП) у складі 19000 пар нуклеотидів, три з яких змінюють послідовність амінокислот білка p53, серед яких, у свою чергу, два поліморфізми, *TP53 P72R (C > G) (rs1042522)* та *TP53 P72S (G > A) (rs1800371)*, впливають на функції p53 [4]. Кодон 72

* Роботу виконано в рамках фундаментальної НДР (2022-2024 рр.) ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» «Дослідити роль генетичних і фармакологічних модулаторів енергетичного гомеостазу в розвитку інсулінорезистентності та асоційованих судинних порушень» (№ держреєстрації 0121U111536).

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 16.01.2023.

гена *TP53* розташований у 4 екзоні в сегменті, який є пролін-багатим доменом p53 і вважається базовим для індукції апоптозу [5]. ОНП (*rs1042522*) у кодоні 72 гена *TP53* виникає внаслідок заміни цитозину на гуанін (*C > G*), в результаті чого у послідовності білка p53, що є продуктом гену *TP53*, відбувається заміна проліну на аргінін (*P72R*).

Виявлено, що у відповідь на пошкодження ДНК за наявності поліморфізму *TP53 P72* стимулюється зупинка клітинного циклу, в той час як варіант *TP53 R72* є найважливішим індуктором апоптозу [6]. Дослідження GWAS не показали суттєвого зв'язку ОНП кодону 72 гена *TP53* з ризиком

розвитку раку, але GWAS виявив значну асоціацію між варіантом *R72* і збільшенням індексу маси тіла [7]. Burgdorf K.S. et al. (2011) першими показали, що *G*-алель *TP53 P72R (C > G) (rs1042522)* виявляє номінальну асоціацію з більш високим рівнем глюкози в плазмі крові натще [8], а широкомасштабним аналізом генів-кандидатів вказано на те, що поліморфізм *TP53 P72R (C > G)* може відігравати значну роль у схильності до ЦД 2 типу в різних популяціях [8, 9].

Метою дослідження була оцінка зв'язку поліморфних варіантів *P72R (C > G)* гена *TP53* з функціонально-метаболічними характеристиками хворих на цукровий діабет 2 типу східноукраїнської популяції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження 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 ШЕП ім. В. Я. Данилевського НАМНУ. Всі обстежені пацієнти проходили стаціонарне лікування в клініці ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», м. Харків.

Вивчення функціональної значущості поліморфних варіантів кандидатного гену містить як ретроспективні, так і проспективні дослідження. В межах роботи «Ади-поцитокіни та патерн чутливості до інсуліну у хворих на цукровий діабет 2 типу, що лікувалися n-3 поліненасиченими жирними кислотами» (спільна тема, реалізована за договором про співпрацю з Національним Інститутом громадського здоров'я та навколишнього середовища, м. Білтховен, Нідерланди, та з Харківською медичною академією післядипломної освіти, м. Харків, Україна, 2008–2010 р.р.) у ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» була створена колекція ДНК хворих на ЦД 2 типу та колекція ДНК зразків популяційної вибірки, яка поповнюється та є матеріалом для довготривалих генетичних досліджень.

Виконано ретроспективний аналіз даних та з дослідженого діабетичного загалу виділена частка пацієнтів для подальшого генетичного аналізу наявних зразків крові. Для ретроспективного аналізу клініко-біохімічних показників було відібрано 50 хворих на ЦД 2 типу з підтвердженням згідно встановлених вимог діагнозом (ж/ч: 21/29) віком $53,34 \pm 1,43$ років, з тривалістю діабету $6,25 \pm 0,89$ років, рівнем глікозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}) $7,12 \pm 0,21\%$, з індексом маси тіла $31,19 \pm 0,93$ кг/м², зі співвідношенням обводу талії до обводу стегон $0,96 \pm 0,01$, з наявністю ішемічної хвороби серця (ІХС) у 38 випадках, гіпертонічної хвороби (ГХ) — у 46, їх сполучення — у 37. У 47 осіб спостерігалися мікроангіопатії (у 34 — полінейропатії, у 42 — ретино-, у 1 — кардіоміо- та у 5 — нефропатія). Антидіабетична терапія включала пероральні цукрознижувальні препарати — сульфаніламід, бігуаніди або їх поєднання.

Хворим проводилось загальне клінічне обстеження, а також детальне обстеження з метою виявлення судинної патології, характерної для ЦД та асоційованої із ним. Наявність та стадію діабетичних мікроангіопатій (ретинопатії та нефропатії), діабетичної нейропатії, макроангіопатій (перш за все, ІХС) та артеріальної гіпертензії за виділенням ГХ діагностували відповідно рекомендацій [10].

Глікемію натще визначали глюкозооксидазним методом за допомогою аналізатору глюкози «Biosenc Line». Наступні параметри були визначені на базі Національного Інституту громадського здоров'я та навколишнього середовища (м. Білтховен, Нідерланди) в межах наукового співробітництва на клінічному автоаналізаторі X20-Pro, Beckman-Coulter (Нідерланди) за допомогою відповідних наборів Beckman-Coulter (високочутливий С-реактивний білок, загальний холестерин, ХС ЛПВЩ, креатинін, тригліцериди) та за використанням імуноферментних методів: ретинол-зв'язуючий протеїн-4 (РЗП4), інтерлейкін-6, (R&DSys-tems, Велика Британія), лептин, програнулін, васпін, оментин-1 (Biovendor, Чеська Республіка), адипонектин загальний та адипонектин високої молекулярної ваги (ALPCO Diagnostics, США), інсулін (DRG, Німеччина).

Інсулінорезистентність характеризували за індексом НОМА-IR [11] та НОМА-IR/адипонектин [12], функцію панкреатичних β -клітин оцінювали за індексом НОМА-BCF. Чутливість до інсуліну оцінювали за індексами QUICKI [13] та адипонектин/лептин [14]. Інсулінорезистентність жирової тканини характеризували за індексом НОМА-IR/адипонектин та Adipo-IR [15].

ДНК зі зразків крові (лейкоцитів) відібраних пацієнтів екстрагували за використанням іонообмінної смоли Chelex-100.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Одержані результати генотипування ОНП *P72R* гена *TP53* проаналізовано за часткою генотипів та за частотою алелей *C* та *G* серед досліджених зразків ДНК. Незважаючи на незначну кількість спостережень у дослідженні, частоти алелей у чоловіків і жінок обстеженої групи ($n = 50$) розрізнялися статистично значуще ($P = 0,05$), та мала місце помітна тенденція до збільшення частоти рецесивного алеля *G*, головним чином у чоловіків, що потребує подальших розширених досліджень (табл. 1).

Аналіз клінічних параметрів обстеженої групи виявив, що носії мінорного генотипу характеризуються значно молодшим віком маніфестації ЦД 2 типу (табл. 2),

Оцінювали ОНП *P72R* ($C > G$) (*rs1042522*) гена *TP53* за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ) з використанням ендонуклеази *Bst*UI. Продукти рестрикції аналізували за допомогою електрофорезу в 2% агарозному гелі, маркер молекулярної маси — ДНК ρ UC19, гідролізована ендонуклеазою *Msp*I (Thermo Fisher Scientific, США).

Застосовували наступні праймери для проведення ПЛР: *TP53 P72R* прямий: 5'-TTGCCGTCCCAAGCAATGGATGA-3' зворотній: 5'-TCTGGGAAGGGACAGAAGATGAC-3'.

Розраховували частоти алелей для досліджених генотипів. Нормальність розподілу змінних визначили за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння біохімічних показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосовували непарний двобічний *t*-критерій Стьюдента, для порівняння параметрів із ненормальним розподілом — критерій Манна-Уїтні. Перевірка нульових гіпотез проведена з використанням критеріїв *t*, *F* і χ^2 , 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 міжквартильного інтервалу 25-ї і 75-ї перцентилі.

що може бути пов'язано з інтенсифікацією апоптотичної загибелі панкреатичних бета-клітин та більш виразним ступенем хронічного запалення, асоційованими з активністю даного рецесивного варіанта білка $p53$ [3, 6]. На підґрунті статистично подібних параметрів, які характеризують ступінь ожиріння та компенсацію вуглеводного обміну, виразних змін зазнали показники, що характеризують резистентність до інсуліну. За умов порівняння як в домінантній (*CC* проти *CG + GG*), так і в рецесивній (тобто, *GG* проти *CC + CG*) моделях спостерігається тенденція зв'язку *G*-алеля у хворих на ЦД 2 типу з інсулінорезистентністю, як печінковою (НОМА-IR),

Таблиця 1

Результати генотипування за одонуклеотидним поліморфізмом (P72R, C > G) гена TP53 у хворих на цукровий діабет 2 типу

Група	n	Частка генотипів, n (%)			Частоти алелей	
		CC	CG	GG	P _C	P _G
Чоловіки	29	5 (0,18)	14 (0,48)	10 (0,34)	0,42	0,58
Жінки	21	4 (0,19)	13 (0,62)	4 (0,19)	0,50	0,50
Всього	50	9 (0,18)	27 (0,54)	14 (0,28)	0,45	0,55

Таблиця 2

Характеристика хворих на цукровий діабет 2 типу з різними генотипами за поліморфізмом TP53 P72R (C > G), ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$), Me (25; 75)

Параметр	Генотип за TP53 P72R (C > G)		
	CC (n = 9)	CG (n = 27)	GG (n = 14)
Вік, роки	56,78 ± 2,73	55,41 ± 1,91	47,14 ± 2,51*
Вік маніфестації діабету, роки	53,00 ± 2,74	48,56 ± 1,94	42,00 ± 2,06*
Індекс маси тіла, кг/м ²	30,88 ± 3,27	32,32 ± 1,07	29,29 ± 1,75
Обвід талії/обвід стегон, ум. од.	0,94 ± 0,02	0,97 ± 0,01	0,95 ± 0,03
Глюкоза, ммоль/л	7,48 ± 1,49 5,74 (4,65; 8,56)	8,10 ± 0,56 7,70 (6,60; 9,47)	7,57 ± 0,78 6,58 (5,48; 9,80)
HbA _{1c} , %	8,06 ± 0,53	7,18 ± 0,25	6,50 ± 0,38
Інсулін, пмоль/л	94,39 ± 12,48 80,13 (72,59; 115,54)	112,78 ± 15,68 107,69 (71,79; 130,12)	136,02 ± 20,81 108,33 (82,05; 196,15)
НОМА-IR, ум. од.	4,77 ± 0,92	6,42 ± 1,06	6,37 ± 0,79
QUICKI, ум. од.	0,52 ± 0,02	0,49 ± 0,01	0,48 ± 0,01
НОМА-IR/адипонектин, ум. од.	0,31 (0,25; 1,05)	0,79 (0,34; 1,29)	1,48 (0,47; 2,18)*
Адипонектин/лептин, ум. од.	0,20 (0,13; 1,23)	0,14 (0,12; 0,22)	0,08 (0,05; 0,18)*
Adipo-IR, ум. од.	73,25 (43,10; 120,88)	63,53 (48,18; 135,94)	71,25 (55,42; 122,37)
Коефіцієнт атерогенності, ум. од.	3,97 ± 0,24	4,21 ± 0,51	5,46 ± 0,37*

Примітка.

* P < 0,05 відносно групи CC.

так і асоційованою із жировою тканиною (НОМА-IR/адипонектин, адипонектин/лептин) (див. табл. 2).

Носії рецесивного алеля також характеризуються збільшеним відносно домінантного CC-генотипу коефіцієнтом атерогенності (див. табл. 2). Це супроводжується статистично доведеними зрушеннями гормональної активності жирової тканини, які також мають проатерогенний характер [16]. Так, виявлено суттєве зниження рівнів адипонектину (загального та високої молекулярної ваги) та оментину і підвищення рівнів лептину та васпіну в цир-

куляції (табл. 3). Вищезазначене дозволяє припустити, що G-алель може бути предиктором більшого ризику розвитку серцево-судинної патології у хворих на ЦД 2 типу. Цей тезис підтримує також показник високочутливого C-реактивного білка, тісно пов'язаний в якості складової хронічного запального процесу з прогресуванням атерогенезу. Так, згідно рецесивній моделі, наявність G-алеля супроводжується слабким, але вірогідним підвищенням рівнів цього білка гострої фази в циркуляції (CC проти CG + GG: 1,92 ± 0,42 мг/л проти 4,62 ± 0,94 мг/л, P < 0,05).

Рівні адипоцитокінів у хворих на цукровий діабет 2 типу з різними генотипами за поліморфізмом *TP53 P72R* ($C > G$), ($\bar{X} \pm S_x$), Me (25; 75)

Параметр	Генотип за <i>TP53 P72R</i> ($C > G$)		
	CC (n = 9)	CG (n = 27)	GG (n = 14)
Адипонектин загальний, мг/л	6,53 (5,93; 9,43)	5,70 (4,72; 9,15)	4,04 * (3,45; 6,98)
Адипонектин високої молекулярної ваги, мг/л	4,40 (3,12; 4,54)	2,34 (1,72; 3,52)	1,57 * (1,18; 3,86)
Лептин, мкг/л	45,30 (6,80; 61,10)	44,10 (39,00; 51,50)	61,90 * (34,43; 79,65)
Васпін, мкг/л	0,20 (0,04; 0,29)	0,27 (0,14; 0,28)	0,60 * (0,42; 0,79)
Оментин-1, мкг/л	580,86 ± 30,74	592,38 ± 63,93	455,25 ± 26,19*
Програнулін, мкг/л	28,56 ± 1,09	30,64 ± 2,07	29,96 ± 1,54
РЗП4, мг/л	32,03 ± 2,14	36,58 ± 2,53	35,73 ± 2,10
ІЛ-6, мкг/л	5,23 ± 0,41 5,15 (4,51; 5,66)	7,93 ± 1,69 5,77 (5,26; 7,35)	7,37 ± 1,25 5,85 (5,26; 7,55)

Примітка.

* $P < 0,05$ відносно групи CC.

Таким чином, незважаючи на невеликий обсяг обстеженої вибірки, оцінка отриманих результатів пошукового дослідження дозволяє припустити, що поліморфізм *P72R* гена *TP53* є функціональним в східноукраїнській популяції, оскільки його алелі пов'язані з виразними метаболічними

розбіжностями у хворих на ЦД 2 типу з ожирінням. Отримані дані свідчать на користь того, що мінорний алель за цим ОНП пов'язаний з ризиком розвитку ЦД 2 типу та його серцево-судинних ускладнень (більшою мірою у чоловіків).

ВИСНОВКИ

1. Доведено, що поліморфізм *P72R* гена *TP53* є функціональним для східноукраїнської популяції, оскільки на тлі співставного ступеня ожиріння та компенсації вуглеводного обміну носії мінорного *G*-алеля характеризуються більшим ступенем інсулінорезистентності та проатерогенним зсувом гормональної активності жирової тканини.
2. Визначено тенденцію до збільшення частоти *G*-алеля у чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу.
3. Виявлено, що носії мінорного генотипу характеризуються значно молодшим віком маніфестації діабету.
4. Отримані результати обґрунтовують необхідність подальших досліджень, спрямованих на оцінку ролі даного поліморфізму в українській популяції.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Zhang Z, Tang P. *Crit Rev Oncog* 2017;22(5-6): 411-426.
2. Bonfigli AR, Sirolla C, Testa R, et al. *Acta Diabetol* 2012;50(3): 429-436.
3. Itahana Y, Itahana K. *Emerging Int J Mol Sci* 2018; 19(3): 776. doi: 10.3390/ijms19030776.
4. Petitjean A, Mathe E, Kato S, et al. *Hum Mutat* 2007; 28: 622-629.
5. Roth J, Koch P, Contente A, Dobbstein M. *Oncogene* 2000;19: 1834-1842.
6. Kung CP, Murphy ME. *J Endocrinol* 2016;231(2): R61-R75.
7. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, et al. *Nat Genet* 2010;42: 937-948.
8. Burgdorf KS, Grarup N, Justesen JM, et al. *PLoS One* 2011;6(1): e15813.

9. Gaulton KJ, Willer CJ, Li Y, et al. *Diabetes* 2008;57: 3136-3144.
10. Cukrovyy diabet 2 typu : Unifikovanyj klinichnyj protokol pervynnoi' ta vtorynnoi' (specializovanoi') medychnoi' dopomogy : nakaz MOZ Ukraїny № 1118 vid 21 grudnja 2012, Kyї'v, 2012: 104 p.
11. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. *Diabetologia* 1985;28: 412-419.
12. Matsuhisa M, Yamasaki Y, Emoto M, et al. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;77: 151-154.
13. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85: 2402-2410.
14. Inoue M, Yano M, Yamakado M, et al. *Metabolism* 2006; 55: 1248-1254.
15. Adams-Huet B, Devaraj S, Siegel D, Jialal I. *Metab Syndr Relat Disor* 2014;12(10): 503-507.
16. Ren Y, Zhao H, Yin C, et al. *Front Endocrinol* 2022;13: 873699. doi: 10.3389/fendo.2022.873699.

ФУНКЦІОНАЛЬНА РОЛЬ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ P72R (C > G) ГЕНА TP53 У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ СХІДНОУКРАЇНСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ

Красова Н. С.¹, Колеснікова А. О.¹, Горшунська М. Ю.², Плохотніченко О. О.¹,
Тижненко Т. В.^{1,2}, Лещенко Ж. А.¹, Гладких О. І.¹, Воропай Т. І.¹, Романова І. П.¹,
Залюбовська О. І.³, Сергієнко Л. Ю.¹, Йенсен Е.⁴, Місюра К. В.¹

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

² Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, м. Харків, Україна;

³ Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна;

⁴ Національний інститут громадського здоров'я та навколишнього середовища,
м. Білтховен, Нідерланди
nkrasova@ukr.net

Останнім часом широко досліджується роль стрес-регуляторних шляхів у розвитку та прогресуванні цукрового діабету (ЦД) 2 типу та асоційованих з ним серцево-судинних захворювань. Метою дослідження була оцінка зв'язку поліморфних варіантів P72R (C > G) гена TP53 з функціонально-метаболічними характеристиками хворих на ЦД 2 типу східноукраїнської популяції.

Матеріали та методи. Обстежено 50 хворих на ЦД 2 типу (ж/ч: 21/29) віком $53,34 \pm 1,43$ років, з тривалістю діабету $6,25 \pm 0,89$ років, рівнем HbA_{1c} $7,12 \pm 0,21\%$, з індексом маси тіла $31,19 \pm 0,93$ кг/м², зі співвідношенням обводу талії до обводу стегон $0,96 \pm 0,01$, з наявністю ішемічної хвороби серця у 38 випадках, гіпертонічної хвороби — у 46, їх сполучення — у 37. У обстежених визначали характеристики вуглеводного/ліпідного обміну, параметри інсулінорезистентності, хронічного запалення та ряд адипокінів. Генотипування за однонуклеотидним поліморфізмом P72R (C > G) гена TP53 проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з відповідними праймерами та ендонуклеазою BstUI. Перевірка нульових гіпотез проведена з використанням критеріїв t, F і χ^2 на рівні значущості $P \leq 0,05$.

Результати. Мала місце помітна тенденція ($P = 0,05$) до збільшення частоти рецесивного алеля G, головним чином у чоловіків, що потребує подальших розширених досліджень. Крім того, носії мінорного генотипу характеризуються значно молодшим віком маніфестації ЦД 2 типу. За умов статистично подібних параметрів, які характеризують ступінь ожиріння та компенсацію вуглеводного обміну, спостерігався зв'язок G-алеля з інсулінорезистентністю, як печінковою (НОМА-IR), так і асоційованою із жировою тканиною (НОМА-IR/адипонектин, адипонектин/лептин). Носії рецесивного алеля також характеризуються збільшеним відносно домінантного CC-генотипу коефіцієнтом атерогенності, суттєвим зниженням рівнів адипонектину (загального та високої молекулярної ваги) та оментину і підвищенням рівнів лептину та васпіну в циркуляції. Згідно рецесивній моделі, наявність G-алеля супроводжується слабким, але вірогідним підвищенням рівнів високочутливого C-реактивного білка (CC проти CG+GG: $1,92 \pm 0,42$ мг/л проти $4,62 \pm 0,94$ мг/л, $P < 0,05$). Вищезазначене дозволяє припустити, що G-алель може бути предиктором більшого ризику розвитку серцево-судинної патології у хворих на ЦД 2 типу.

Висновки. Доведено, що поліморфізм P72R гена TP53 є функціональним для східноукраїнської популяції, оскільки на тлі співставного ступеня ожиріння та компенсації вуглеводного обміну носії мінорного G-алеля характеризуються більшим ступенем інсулінорезистентності та проатерогенним зсувом гормональної активності жирової тканини. Виявлено тенденцію до збільшення частоти G-алеля у чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу, та визначено, що носії мінорного генотипу характеризуються значно молодшим віком маніфестації діабету. Отримані результати обґрунтовують необхідність подальших досліджень, спрямованих на оцінку ролі даного поліморфізму в українській популяції.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, ген TP53, однонуклеотидний поліморфізм, адипоцитокіни.

FUNCTIONAL ROLE OF THE TP53 GENE SINGLE NUCLEOTIDE
POLYMORPHISM P72R (C>G) IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS
OF THE EAST UKRAINIAN POPULATION

N. S. Krasova¹, A. O. Kolesnikova¹, M. Yu. Gorshunskaya², O. O. Plohotnichenko¹,
T. V. Tyzhnenko^{1,2}, Z. A. Leshchenko¹, O. I. Gladkih¹, T. I. Voropay¹, I. P. Romanova¹,
E. I. Zalubovskaya³, L. Y. Sergienko¹, E. Jansen⁴, K. V. Misiura¹

¹ SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine»,
Kharkiv, Ukraine;

² V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine;

³ Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine;

⁴ National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherland
nkrasova@ukr.net

Recently, the role of stress-regulatory pathways in the development and progression of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and associated cardiovascular diseases has been widely investigated. The aim of the study was to assess the relationship of polymorphic variants *P72R (C > G)* of the *TP53* gene with the functional and metabolic characteristics of type 2 diabetic patients in the East Ukrainian population.

Materials and methods. 50 T2DM patients (female/male: 21/29) aged 53.34 ± 1.43 yrs., with diabetes duration of 6.25 ± 0.89 yrs., HbA1c level of $7.12 \pm 0.21\%$, body mass index of 31.19 ± 0.93 kg/m², with waist-to-hip ratio of 0.96 ± 0.01 , with the presence of coronary heart disease in 38 cases, hypertension in 46 cases, and their combination in 37 cases. Characteristics of carbohydrate/lipid metabolism, parameters of insulin resistance, chronic inflammation, and a number of adipokines were determined in the subjects. Genotyping for single nucleotide polymorphism *P72R (C > G)* *TP53* was performed by the method of polymerase chain reaction with appropriate primers and *BstUI* endonuclease. Testing of null hypotheses was carried out using the *t*, *F* and χ^2 criteria at the significance level of $P \leq 0.05$.

Results. There was a noticeable tendency ($P = 0.05$) to increase in frequency of the recessive allele G, mainly in men, which requires further extended studies. In addition, carriers of the minor genotype are characterized by a significantly younger age of T2DM manifestation. Under the statistically similar parameters that characterize the degree of obesity and glucose metabolism compensation, the connection of the G-allele with insulin resistance, both hepatic (HOMA-IR) and associated with adipose tissue (HOMA-IR/adiponectin, adiponectin/leptin) was observed. Carriers of the recessive allele are also characterized by an increased atherogenic coefficient relative to the dominant CC genotype, a significant decrease in the levels of adiponectin (total and high molecular weight) and omentin, and an increase in the levels of leptin and vaspin in the circulation. According to the recessive model, the presence of the G-allele is accompanied by a weak but probable increase in the levels of highly sensitive C-reactive protein (CC vs. CG + GG: 1.92 ± 0.42 mg/l vs. 4.62 ± 0.94 mg/l, $P < 0.05$). The above suggests that the G-allele may be a predictor of a greater risk of cardiovascular disease development in patients with T2DM.

Conclusions. It has been proven that the *P72R* polymorphism of the *TP53* gene is functional for the East Ukrainian population, because against the background of a comparable degree of obesity and glucose metabolism compensation, carriers of the minor G-allele are characterized by a greater degree of insulin resistance and a proatherogenic shift in the hormonal activity of adipose tissue. A tendency to increase in frequency of the G-allele in men with type 2 diabetes was revealed, and it was determined that carriers of the minor genotype are characterized by a significantly younger age of diabetes manifestation. The obtained results substantiate the need for further research to assess the role of this polymorphism in the Ukrainian population.

Key words: type 2 diabetes mellitus, TP53 gene, single nucleotide polymorphism, adipocytokines.