

2. Гожая Л. Д. Заболевания слизистой оболочки полости рта, вызванные применением материалов для изготовления зубных протезов / Л. Д. Гожая, Т. Г. Исакова // Материалы 14-й и 15-й Всероссийской научно-практической конференции и труды 10-го съезда Стоматологической ассоциации России : Москва, 2008. – М., 2005. – С. 133–134.

3. Дівнич Т. Я. Медикаментозна корекція мікробіоценозу ротової порожнини при користуванні знімними конструкціями зубних протезів / Т. Я. Дівнич, М. М. Рожко, Р. В. Кулік // Галицький лікарський вісник. – 2008. – № 3. – С. 22–25.

4. Вязьмин А. Клиническое значение дифференциальной диагностики причин нарушения функциональной эффективности полных съёмных протезов / А. Вязьмин, И. Фластнер, Е. Мокренко // Стоматолог. – 2004. – № 5. – С. 32–34.

5. Василюшин У. Р. Клініко-імунологічна оцінка ефективності застосування імудону як засобу імунотропічної та імунотерапії інфекційно-алергічних захворювань слизової оболонки порожнини рота при користуванні знімними конструкціями зубних протезів / У. Р. Василюшин, Г. М. Ерстенюк // Галицький лікарський вісник. – 2007. – № 1. – С. 25–27.

6. Генкова Ю. А. Клинико-экспериментальная оценка антимикроб-

ной обработки съёмных ортопедических конструкций из базисных пластмасс : автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.01.22 «Стоматология» / Ю. А. Генкова. – Новосибирск, 2006. – 22 с.

7. Рыжова И. П. Современные технологии в протезировании съёмными протезами / И. П. Рыжова // Современная стоматология. – 2006. – № 6. – С. 34–35.

REFERENCES

1. Ornat G.S. Otsinka efektyvnosti likuvannya proteznykh stomatitiv vit-chiznyanyam preparatom "Erbisol" [Evaluating the effectiveness of treatment of prosthetic stomatitis native medicine "Erbisol"]. *Ukr. balneologichnuy zhurnal* 2001; 2: 91-94.

2. Gozhaia L.D., Isakova T.G. Zabo-levania slizistoy obolochki polosti rta, vyzvannye primeneniym dlya izgotovleniya zubnykh protezov [Diseases of the oral mucosa caused by the use of materials for the manufacture of dentures]. Materials 14 and 15 All-Russian scientific and practical conference Congress of the Dental Association of Russia. M., 2005, p. 133-134.

3. Divnich T.Ya., Rozhko M.M., Ku-lik R.V. Medykamentozna korektsiya mikrobiotsenozu rotovoi porozhnyny pry korystuvanni znimnyy konstruktsiyamy zubnykh proteziv [Pharmacological therapy microbiota of the oral cavity using a removable dental pros-

thesis designs] *Galytskyy likarskiy visnyk* 2008; 3: 22-25.

4. Viazmin A., Flastner I., Mokrenko E. Klinicheskoe znachenie differentsialnoy diagnostiki prichin narusheniya funktsionalnoy effektivnosti polnykh syomnykh protezov. *Stomatolog* 2004; 5: 32-34.

5. Vasilishin U.R., Erstenuk G.M. Kliniko-imunologichna otsinka efektyvnosti zastosuvannya imudonu yak zasobu imunoprofilaktyky ta immunoterapii infektsiyno-alergichnykh zahvruvan' slyzovoi obolonky porozhnyny rota pry korystuvanni znimnyy konstruktsiyamy proteziv [Clinical and immunological assessment of effectiveness Imudon use as a means of immunization and immunotherapy of infectious and allergic diseases of the oral mucosa using a removable dental prosthesis designs]. *Galytskyy likarskiy visnyk* 2007; 1: 25-27.

6. Genkova Yu.A. Kliniko-eksperimentalnaya otsinka antimikrobnoy obrabotki s'yomnykh ortopedicheskikh konstruktsiy iz basisnykh plastmass. [Clinical and experimental evaluation of antimicrobial treatment removable prosthetic basis of plastics]. Thesis of diss. Novosibirsk, 2006, 22 p.

7. Ryzhova I.P. Sovremennye tekhnologii v protesirovanii syomnyy protezami [Modern manufacturing techniques removable dentures] *Sovremennaya stomatologia* 2006; 6: 34-35.

Надійшла 20.05.2014

УДК 575:616-008.61

С. А. Штандель, Т. М. Тихонова

РОЗПОДІЛ ПОЛІМОРФІЗМУ E23K ГЕНА *KCNJ11* У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології імені В. Я. Данилевського НАМН України», Харків, Україна

УДК 575:616-008.61

С. А. Штандель, Т. М. Тихонова

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА E23K ГЕНА *KCNJ11* У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии имени В. Я. Данилевского НАМН Украины», Харьков, Украина

Целью исследования было изучить распределение полиморфизма E23K гена *KCNJ11* у больных разными клиническими вариантами течения сахарного диабета. У 231 больного сахарным диабетом (47 — 1 типа, 101 — 2 типа, 83 — медленно прогрессирующего аутоиммунного диабета взрослых) и 44 здоровых лица при помощи полимеразной цепной реакции и использования рестриктазы *VanII* изучено распределение полиморфизма E23K гена *KCNJ11*. Показано наличие ассоциации гомозиготного носительства этого полиморфизма с разными клиническими вариантами течения сахарного диабета ($OR_{CD\ 1\ типа} = 13,10$; $OR_{CD\ 2\ типа} = 12,88$; $OR_{MПАДВ} = 14,69$).

Ключевые слова: сахарный диабет, медленно прогрессирующий диабет взрослых, полиморфизм E23K гена *KCNJ11*.

UDC 575:616-008.61

S. A. Shtandel, T. M. Tykhonova

GENE *KCNJ11* E23K POLYMORPHISM AT DIABETES MELLITUS PATIENTS

V. Ya. Danylevsky Institute of Endocrine Pathology Problems, Kharkiv, Ukraine

The aim of the study was to examine the association of the *KCNJ11* gene polymorphism E23K with the predisposition to the different clinical variants of diabetes mellitus (DM) in Ukrainian population.



Materials and methods. The study was performed in the group of 47 patients with type 1 DM classical clinical form, 83 individuals with LADA (with anti islet, GADA antibodies and low C-peptide levels), 101 patients with type 2 DM and 44 healthy Kharkov inhabitants. The GADA, IA2A and ICA antibodies were measured with RIA. The presence of different variants of the *KCNJ11* gene polymorphism was estimated using the DNA sequencing method.

Results. LADA, type 2 and 1 DM patients had the higher E23K polymorphism of *KCNJ11* gene frequency, than control data in Kharkov population: the homozygote K/K polymorphism of *KCNJ11* gene association with different clinical form of diabetes mellitus was 51.82, 48.51, 48.94% vs 6.82%. Data of our study data suggested powerful association E23K polymorphism of *KCNJ11* gene in DM type 2, 1 and LADA patients in comparison to those with health ones: for K/K genotype — $OR_{DM\ type\ 1} = 13.10$; $OR_{DM\ type\ 2} = 12.88$; $OR_{LADA} = 14.69$.

Conclusions. It has been shown, that the homozygote K/K polymorphism of *KCNJ11* gene plays the important role in the type 2, 1 and LADA genetic predisposition in Ukrainian population.

Key words: diabetes mellitus, latent autoimmune diabetes of adults (LADA), E23K single nucleotide polymorphism of *KCNJ11* gene.

Вступ

Ген *KCNJ11* знаходиться на 11-й хромосомі в ділянці p15.1. Ген *KCNJ11* кодує синтез білка Kir6.2 (Potassium inward rectifier 6.2), що входить до складу калієвого каналу в клітинах, які спроможні до збудження, та створює пору для транспортування іонів калію з клітини. Закриття каналу необхідне для секреції глюкозостимульованого інсуліну бета-клітинами. Відкриття цього каналу інгібує секрецію інсуліну. Білок Kir6.2 складається з 427 амінокислот із двома трансмембранними доменами (M1 і M2) та центральної пори (H5), що регулює IK1 компонент калієвого струму із затриманим випрямленням фази реполяризації. Більшість мутацій цього гена є місенс-мутаціями, що мають домінант-негативний ефект, який призводить до зниження IK1 струму, зменшення реполяризації та зростання тривалості потенціалу дії [1]. Сьогодні існує точка зору, що поліморфізм E23K гена *KCNJ11* бере участь у розвитку інсулінової недостатності у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу [2; 3]. Нині засвідчено існування асоціації поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на ЦД 2 типу [4–6]. Враховуючи наявність родичів, хворих на різні клінічні варіанти перебігу ЦД (1 тип і повільно прогресуючий автоімунний діабет дорослих — ППАДД) у хворих на ЦД 2 типу [7], доцільно було

дослідити розподіл цього поліморфізму серед хворих на різні форми ЦД. Окрім того, згідно з даними генетичного аналізу, у системі генетичного контролю ППАДД наявні 65,3 і 66,1 % генів, які зумовлюють схильність до розвитку ЦД 1 та 2 типів відповідно. Ці дані обґрунтовують актуальність дослідження розподілу поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на ППАДД.

Метою дослідження було визначення особливостей розподілу поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на різні клінічні варіанти перебігу ЦД.

Матеріали та методи дослідження

Було встановлено розподіл поліморфізму E23K гена *KCNJ11* серед хворих на ЦД і здорових мешканців Харкова. Характеристика обстежених осіб подана в табл. 1. Верифікацію ППАДД здійснювали за допомогою визначення антитіл до цитоплазматичного антигена острівців Лангерганса (ICA ab) із використанням набору Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating Autoantibodies Against Islet Cell Antigens (Biomerica, США), до декарбоксилази глутамінової кислоти (GAD ab) за допомогою набору Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating Autoantibodies Against GAD Antigens (Biomerica, США), до тирозинфосфатази (IA-2 ab) із використанням набору Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating

Autoantibodies Against IA-2A (Medipan, США).

Титр антитіл розцінювали як позитивний при перевищенні оптичної щільності сироватки, що вивчалася, над оптичною щільністю контролю. Контрольну групу утворили репрезентативні за статтю та віком здорові особи. Діагноз ЦД 1 та 2 типів базувався на загальноприйнятій класифікації захворювання. Серед хворих на ЦД 2 типу 27 осіб були переведені на інсулінотерапію у термін 10 та більше років від початку захворювання у зв'язку зі встановленою (за результатами визначення С-пептиду) абсолютною інсулінонезалежністю. Виділення ДНК виконували із цільної крові з використанням набору для виділення ДНК «ДНК-сорб-В» (Москва, Російська Федерація).

Поліморфізм E23K гена *KCNJ11* було ампліфіковано за допомогою прямого GAATA-CGTCCTGACACGCCT і зворотного GCCAGCTGCACAGG-AAGGACAT праймерів. Реакційна суміш складалась із 25 нг геномної ДНК, 2,5 мкл 10x PCR буфера, 0,6 мкл dNTP (2,5 ммоль/л), 0,3 мкл кожного праймера (20 пмоль/л) і 0,3 мкл *Taq* полімерази (фірма «Сибензім») у 25 мкл реакційної суміші. Умови ампліфікації: первинна денатурація — 3 хв при 95 °С, подальші кроки — при 95 °С 1 хв, 1 хв — при 62 °С і 1 хв при 72 °С (35 циклів) та експозиція, що завершує полімеразну ланцюгову реакцію, при



72 °C 5 хв. Продукт ампліфікації (10 мкл) було інкубовано з рестриктазою BanII при 37 °C протягом 2 год і при 65 °C — 10 хв. Мутантний алель 23K втрачає послідовність рестрикції та складається з фрагмента 218 bp. Рестрикція алеля 23E дає фрагменти 178 bp та 40 bp [8]. Відносний ризик розвитку захворювання Odds ratio (OR) за наявності поліморфізму оцінювали згідно з [9].

Результати дослідження та їх обговорення

Результати порівняльного аналізу серед хворих на ППАДД, ЦД 1 та 2 типів розподілу хворих за генотипами E23K гена *KCNJ11*, який бере участь у розвитку інсулінової недостатності у хворих на ЦД 2 типу [2], наведені у табл. 2. Дослідження розподілу генотипів E23K гена *KCNJ11* серед груп, що порівнювалися, визначило високу асоціацію мутантних гомозигот із ЦД 1, 2 типів і ППАДД ($OR_{\text{ЦД 1 типу}} = 13,10$; $OR_{\text{ЦД 2 типу}} = 12,88$; $OR_{\text{ППАДД}} = 14,69$). Також слід відзначити те, що хоча хворі на ППАДД частіше були гомозиготними носіями мутації E23K гена *KCNJ11*, порівняно з хворими на ЦД 2 та 1 типів (див. табл. 2) вірогідних різниць у частотах генотипів між хворими на ППАДД, ЦД 1 та 2 типів визначено не було (табл. 3). Отримані дані збігаються з даними про асоціацію поліморфізму E23K гена *KCNJ11* з ЦД 2 типу в різних популяціях світу [2–6]. Асоціацію цього поліморфізму з ЦД 1 типу можна пояснити наявністю хворих на ЦД 2 типу родичів у осіб із ЦД 1 типу й існуванням загальної кількості генів у системі генетичного контролю ЦД 1 та 2 типів згідно з даними тестування моделі генетичної гетерогенності Ch. Smith'a [10]. Значущу асоціацію поліморфізму E23K гена *KCNJ11* із ППАДД також можна пояснити існуванням значної кількості спільних із ЦД 1 та 2 типів генів (65,3 і 66,1 % відповідно) [7].

Таблиця 1
Характеристика осіб, що обстежувалися, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$, роки

Показник	Контроль, n=44	ЦД 1 типу, n=47	ЦД 2 типу, n=101	ППАДД, n=83
Вік на час обстеження	35,40± ±0,90	39,27± ±0,94	54,44± ±0,52	53,62± ±1,78
Вік початку ЦД	—	23,97± ±0,99	43,30± ±0,59	45,59± ±1,49
Вік початку інсулінотерапії	—	23,97± ±0,99	53,35± ±0,87	48,16± ±1,41
Тривалість ефективної пероральної цукрознижувальної терапії	—	—	10,05± ±0,58	2,57± ±0,71

Таблиця 2
Частота генотипів поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на цукровий діабет та у здорових мешканців Харкова

Генотип	Кількість хворих, абс. (%)	χ^2	p	OR (95 % CI)
Контроль, n=44				
E/E	32 (72,73)	—	—	—
E/K	9 (20,45)	—	—	—
K/K	3 (6,82)	—	—	—
ЦД 1 типу, n=47				
E/E	8 (17,02)	26,410	0,000	0,08 (0,02–0,12)
E/K	16 (34,04)	1,479	0,224	2,01 (0,52–3,50)
K/K	23 (48,94)	17,743	0,000	13,10 (0,83–15,26)
ЦД 2 типу, n=101				
E/E	19 (18,81)	36,744	0,000	0,87 (0,15–1,28)
E/K	33 (32,67)	1,670	0,196	1,89 (0,57–3,06)
K/K	49 (48,51)	21,309	0,000	12,88 (2,88–15,44)
ППАДД, n=83				
E/E	20 (24,10)	26,150	0,000	0,12 (0,03–0,91)
E/K	20 (24,10)	0,059	0,808	1,23 (0,45–2,66)
K/K	43 (51,82)	23,285	0,000	14,69 (3,92–19,20)

Примітка. OR — показник відносного ризику. У табл. 2, 3: p — значущість розбіжностей.

Таблиця 3
Розбіжності між частотами генотипів поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на цукровий діабет

Група порівняння	Генотип	χ^2	p
ЦД 1 типу — ЦД 2 типу	E/E	0,001	0,973
	K/E	0,001	0,982
	K/K	0,017	0,897
ЦД 1 типу — ППАДД	E/E	0,519	0,471
	K/E	1,027	0,311
	K/K	0,017	0,895
ППАДД — ЦД 2 типу	E/E	0,478	0,489
	K/E	1,243	0,265
	K/K	0,088	0,767



Висновки

1. Знайдено асоціацію поліморфізму E23K гена *KCNJ11* із різними формами ЦД (OR_{ЦД 1 типу} = 13,10; OR_{ЦД 2 типу} = 12,88; OR_{ППАДД} = 14,69).

2. Не визначено значущих різниць у частотах генотипів між хворими на ППАДД, ЦД 1 та 2 типів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Крупянко С. М. Синдром Андерсена / С. М. Крупянко, Т. Т. Какучая // *Аннали аритмології*. – 2005. – № 4. – С. 35–41.

2. Frayling T. M. Genetic studies of diabetes following the advent of the genome-wide association study: where do we go from here? / T. M. Frayling, M. I. McCarthy // *Diabetologia*. – 2007. – Vol. 50, N 11. – P. 2229–2233.

3. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K⁺ channel gene (KIR6.2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians / E. H. Hani, P. Boutin, E. Durand [et al.] // *Diabetologia*. – 1998. – Vol. 41, N 12. – P. 1511–1515.

4. Type 2 diabetes-associated missense polymorphisms *KCNJ11* E23K and *ABCC8* A1369S influence progression to diabetes and response to Interventions in the Diabetes Prevention Program / C. J. Florez, K. A. Jablonski, S. E. Kahn [et al.] // *Diabetes*. – 2007. – Vol. 56, N 2. – P. 531–536.

5. Li Y. Y. The *KCNJ11* E23K gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population: a meta-analysis of 6,109 subjects / Y. Y.

Li // *Mol. Biol. Rep.* – 2013. – N 1. – P. 141–146.

6. Riedel M. J. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes / M. J. Riedel, D. C. Steckley, P. E. Light // *Hum. Genet.* – 2005. – Vol. 116, N 2. – P. 133–145.

7. Штандель С. А. Изучение особенностей наследования латентного аутоиммунного диабета взрослых (LADA) / С. А. Штандель, Т. М. Тихонова // *Цитология и генетика*. – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 80–83.

8. The E23K variant in the Kir6.2 subunit of the ATP-sensitive K⁺ channel does not augment impaired glucose tolerance in Caribbean subjects with a family history of type 2 diabetes / Ch. Ezenwaka, R. Kalloo, M. Uhlig [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 2005. – Vol. 185, N 6. – P. 439–444.

9. Bland M. The odds ratio / M. Bland, D. G. Altman // *BMJ*. – 2000. – Vol. 320, N 5. – P. 1468.

10. Генетический анализ эндокринных заболеваний щитовидной и поджелудочной желез / С. А. Штандель, Л. А. Атраментова, С. А. Финогенова, А. Р. Геворкян // *Цитология и генетика*. – 2000. – Т. 34, № 3. – С. 34–42.

REFERENCES

1. Krupyanko S.M., Kakuchaya T.T. Andersen Syndrome. *Annaly of Aritmologii* 2005; 4: 35-41.

2. Frayling T.M., McCarthy M.I. Genetic studies of diabetes following the advent of the genome-wide association study: where do we go from here? *Diabetologia* 2007; 11 (50): 2229-2233.

3. Hani E.H., Boutin P., Durand E., Inoue H., Permutt M.A., Velho G., Froguel P. Missense mutations in the

pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K⁺ channel gene (KIR6.2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians *Diabetologia* 1998; 12 (41): 1511-1515.

4. Florez J.C., Jablonski K.A., Kahn S.E., Franks P.W., Dabelea D., Hamman R.F., Knowler W.C., Nathan D.M., Altshuler D. Type 2 diabetes-associated missense polymorphisms *KCNJ11* E23K and *ABCC8* A1369S influence progression to diabetes and response to interventions in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes* 2007; 56: 531-536.

5. Li Y.Y. The *KCNJ11* E23K gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population: a meta-analysis of 6,109 subjects *Mol. Biol. Rep.* 2013; 1: 141-146.

6. Riedel M.J., Steckley D.C., Light P.E. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes. *Hum. Genet.* 2005; 2 (116): 133-145.

7. Shtandel' S.A., Tikhonova T.M. A study of features of the inheritance of latent autoimmune diabetes of adults (LADA). *Cytologiya i Genetika* 2008; 5 (42): 351-354.

8. Ezenwaka Ch., Kalloo R., Uhlig M., Schwenk R., Eckel J. The E23K variant in the Kir6.2 subunit of the ATP-sensitive K⁺ channel does not augment impaired glucose tolerance in Caribbean subjects with a family history of type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology* 2005; 6 (185): 439-444.

9. Bland M., Altman D.G. The odds ratio. *BMJ* 2000; 5 (320): 1468.

10. Shtandel' S.A., Atramentova L.A., Finogenova S.A., Gevorkian A.R. A genetic analysis of endocrine diseases of the thyroid and pancreas. *Tsitologiya i genetika* 2000; 34 (3): 34-42.

Надійшла 28.04.2014

Передплачуйте
і читайте



ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

Передплатний індекс 48717

У випусках журналу:

- ◆ Теорія і експеримент
- ◆ Клінічна практика
- ◆ Профілактика, реабілітація, валеологія
- ◆ Новітні технології
- ◆ Огляди, рецензії, дискусії

