

УДК 577.112.7:616

Д.О. Мінченко^{1,2}, О.В. Тяжка¹, О.С. Гнатюк², О.Г. Мінченко²

Експресія генів *NAMPT*, *PLOD2*, *FBN1* та *IFRD* у клітинах крові у підлітків з ожирінням, ускладненим резистентністю до інсуліну

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ, Україна²Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ, Україна

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2016.3(75):132-136; doi10.15574/SP.2016.75.132

Мета: дослідити рівень експресії генів, що кодують ензими *NAMPT* та *PLOD2*, а також протеїну позаклітинного матриксу *FBN1* і залежного від інтерферону регулятора розвитку *IFRD*, у клітинах крові підлітків з ожирінням як за нормальної, так і порушеної чутливості до інсуліну.

Пацієнти і методи. Дослідження проведені на трьох групах підлітків чоловічої статі віком біля 14 років: без ознак ожиріння (контроль) та з ожирінням, які мали як нормальну, так і порушену чутливість до інсуліну. РНК виділяли із клітин крові і рівень експресії генів визначали методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі.

Результати. Встановлено, що рівень експресії генів *NAMPT* і *IFRD* знижується, а генів *PLOD2* та *FBN1*, навпаки, збільшується у клітинах крові підлітків за умов ожиріння і нормальної чутливості до інсуліну порівняно з контрольною групою. За умов розвитку резистентності до інсуліну на тлі ожиріння спостерігається зменшення рівня експресії генів *PLOD2* і *FBN1*, а також подальше зниження рівня експресії гена *NAMPT* у клітинах крові порівняно з групою підлітків, що мали ожиріння з нормальною чутливістю до інсуліну. Водночас не було виявлено істотних змін в експресії гена *IFRD* у клітинах крові підлітків, що мали резистентність до інсуліну на тлі ожиріння, порівняно з групою дітей з ожирінням без порушення чутливості до інсуліну.

Висновки. Рівень експресії генів поліфункціональних ензимів *NAMPT* і *PLOD2*, а також протеїну позаклітинного матриксу *FBN1* та залежного від інтерферону регулятора розвитку *IFRD*, які задіяні у багатогранній регуляції процесів метаболізму, суттєво порушується у клітинах крові підлітків за умов ожиріння, як з нормальною, так і пригніченою чутливістю до інсуліну, причому з резистентністю до інсуліну за умов ожиріння асоціюються зміни в експресії трьох досліджених генів (*NAMPT*, *PLOD2* та *FBN1*), що свідчить про можливу їх причетність до розвитку резистентності до інсуліну.

Ключові слова: ожиріння, підлітки, резистентність до інсуліну, експресія генів, *NAMPT*, *PLOD2*, *FBN1*, *IFRD*, клітини крові.

Вступ

Розвиток ожиріння та його метаболічних ускладнень є однією з найважливіших проблем сьогодення у всьому світі і супроводжується численними порушеннями процесів метаболізму, і не лише у жировій тканині, причому ці зміни значною мірою відбиваються на крові [2,5,14]. Більше того, дослідження, проведені на молекулярному та клітинному рівнях, продемонстрували наявність взаємозв'язків між метаболічними порушеннями за ожиріння і його ускладнень (резистентності до інсуліну і діабету 2 типу) та дисрегуляцією ключових регуляторних механізмів шляхом змін в експресії великої кількості генів [6,10]. Як і багато інших захворювань, ожиріння та його метаболічні ускладнення є результатом тісної взаємодії певних генетичних факторів і різноманітних зовнішніх чинників, хоча і дисрегуляція метаболізму, у свою чергу, може призводити до певних змін у функціонуванні регуляторних механізмів клітин на різних рівнях [7,8]. Відомо, що адипогенез, як і процеси транспорту та метаболізму глюкози і ліпідів, а також багато інших, включаючи процеси проліферації, контролюються сіткою регуляторних факторів, що тісно пов'язані між собою [7,8]. Раніше було показано, що за умов ожиріння без порушення толерантності до інсуліну у клітинах крові дітей посилюється експресія генів альдолази С та TIGAR, який є залежним від TP53 регулятором гліколізу та апоптозу, а з резистентністю до інсуліну за умов ожиріння асоціюються зміни в рівні експресії генів гліколізу *ENO1* та *ENO2* [1]. При дос-

лідженні експресії генів низки поліфункціональних протеїнів позаклітинного матриксу, які задіяні у регуляції процесів проліферації та ангіогенезу, виявлено суттєве порушення їх експресії у клітинах крові підлітків за умов ожиріння, як з нормальною, так і пригніченою чутливістю до інсуліну, причому з резистентністю до інсуліну за умов ожиріння асоціюються зміни в експресії усіх досліджених генів [3].

Відомо, що в центрі процесу ожиріння є ріст жирової тканини, і накопичення жиру викликає локальне хронічне запалення та дисрегуляцію адипоцитокінів, причетних до розвитку метаболічного синдрому, а це може призводити і до порушення експресії генів у клітинах крові [5]. У зв'язку з цим пізнання детальних молекулярних механізмів порушення процесів метаболізму на клітинному та системному рівнях сприятиме з'ясуванню як природи ожиріння, так і його метаболічних ускладнень, а також розробці нових стратегій лікування та профілактики цих захворювань.

Відомо, що ключові регуляторні ензими та фактори, у тому числі і такі як *NAMPT*, *PLOD2*, *FBN1* і *IFRD*, є поліфункціональними, залежними від стресу протеїнами і контролюють різні метаболічні шляхи, причому цілий ряд функцій виконують як у клітинах, так і поза ними [2,7,8,9,12,13,15]. Так, нікотинамід-фосфорибозилтрансфераза (*NAMPT*) є важливим ензимом у синтезі нікотинаміддинуклеотиду, який задіяний у регуляції багатьох важливих біологічних процесів, у тому числі проліферації

та міграції клітин, запалення, а також відіграє ключову роль у розвитку ожиріння і резистентності до інсуліну [12,15]. NAMPT активує рецептор інсуліну, знижує рівень глюкози в крові і покращує чутливість до інсуліну. Слід зазначити, що лейкоцити є основним джерелом циркулюючого NAMPT, який має імуномодулюючі та антидіабетичні властивості як адипокін, причому він не може проявляти ензиматичну активність через відсутність у плазмі крові АТР [15]. Ензим PLOD2 бере участь у ремоделюванні позаклітинного матриксу, у тому числі за гіпоксії, шляхом змін стабільності інтрамолекулярних зв'язок у колагені, що має важливе значення у розвитку ожиріння та канцерогенезі [9]. Ген фібриліну 1 (*FBN1*) кодує великий за розміром глікопротеїн міжклітинного матриксу, який є структурним компонентом позаклітинних кальцій-зв'язуючих мікрофібрил і контролює різні сторони метаболізму, оскільки задіяний у різних сигнальних шляхах, а залежний від інтерферону регулятор розвитку IFRD функціонує як транскрипційний коактиватор/корепресор у регуляції процесів проліферації фактором росту нервів NGE, але по-різному у різних типах клітин [13].

Важливо відмітити, що характерною особливістю як ожиріння, так і асоційованої з ним резистентності до інсуліну, а також ряду інших патологічних станів, є порушення дозрівання протеїнів у ендоплазматичному ретикулумі і накопичення в ньому не згорнутих або неправильно згорнутих протеїнів, що отримало назву «стрес ендоплазматичного ретикулуму» [7,8]. Саме цей стрес є вагомим фактором виникнення резистентності до інсуліну, як і низки інших метаболічних порушень за ожиріння, оскільки за стресу ендоплазматичного ретикулуму порушуються сигнальні шляхи від рецептора інсуліну, причому він є чинником, що контролює експресію великої кількості генів, у тому числі і генів, що контролюють метаболізм глюкози, і пов'язує між собою ожиріння та його ускладнення [7,8]. Разом з тим детальні молекулярні механізми участі різних генів у розвитку ожиріння та його ускладнень ще не зовсім з'ясовані і заслуговують на подальше детальне вивчення.

Метою даної роботи було вивчити рівень експресії генів, що кодують поліфункціональні ензими (NAMPT та PLOD2), а також протеїну позаклітинного матриксу фібриліну 1 (*FBN1*) та залежного від інтерферону регулятора розвитку (IFRD), у клітинах крові підлітків з ожирінням як за нормальної, так і порушеної чутливості до інсуліну у порівнянні з групою здорових дітей для виявлення тих генів, зміна експресії яких може бути пов'язана як із розвитком резистентності до інсуліну за умов ожиріння.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проведені на дітях чоловічої статі віком біля 14 років, які були розподілені на три групи (по п'ять у кожній групі). Перша контрольна група включала дітей без ознак ожиріння з індексом маси тіла $18,7 \pm 0,12$ кг/м². До другої групи були відібрані підлітки, що мали ожиріння і нормальну чутливість до інсуліну, а індекс маси тіла дорівнював $31,0 \pm 0,40$ кг/м². Третя група дітей мали ожиріння (індекс маси тіла $34,2 \pm 2,39$ кг/м²) та резистентність до інсуліну. Обстеження пацієнтів і отримання біологічного матеріалу було проведено в ДЗ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України», з дотриманням усіх біотичних вимог.

Встановлено, що індекс маси тіла був значно більшим в обох групах дітей з ожирінням (+66 та +83%, відповідно для груп з нормальною чутливістю до інсуліну та з резистентністю до інсуліну; $P < 0,05$ в обох випадках) при порівнянні з контрольною групою дітей. Індекс резистентності до інсуліну був більшим у 3,7 разу ($P < 0,05$) у групі дітей з ожирінням і порушеною чутливістю до інсуліну порівняно з контрольною групою та у 3,2 разу ($P < 0,05$) порівняно з групою дітей з ожирінням і нормальною чутливістю до інсуліну. Подібні результати були отримані і при дослідженні рівня інсуліну у крові натщесерце: відсутність істотних змін у дітей з ожирінням і нормальною чутливістю до інсуліну, але суттєве збільшення рівня інсуліну (у 3,3 разу; $P < 0,05$) у дітей, що мали ожиріння, ускладнене резистентністю до інсуліну, при порівнянні з контрольною групою дітей.

РНК із крові виділяли за допомогою реагенту Trisol (Invitrogen, США), як описано раніше [4]. Концентрацію та спектральні характеристики отриманих препаратів РНК визначали на спектральному спектрофотометрі NanoDrop Spectrophotometer ND1000 (PEQLAB, Biotechnologie GmbH). Експресію генів *NAMPT*, *PLOD2*, *FBN1* та *IFRD*, а також бета-актину, як контрольного гена, досліджували методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі, яку проводили на апаратах The 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) та RotorGene RG-3000 (Corbett Research, Німеччина), використовуючи для проведення реакції Absolute QPCR SYBR-Green Mix (Thermo Scientific, Великобританія) та пари специфічних для кожного гена праймерів, які були отримані із компанії Sigma-Aldrich, США. Для синтезу комплементарної ДНК (кДНК) використовували тотальну РНК із клітин крові як матрицю та набір QuantiTect Reverse Transcription (QIAGEN, Німеччина), в якому передбачено етап, що забезпечує елімінацію можливих залишків геномної ДНК.

Дослідження експресії мРНК ензиму NAMPT (nicotinamide phosphoribosyltransferase; EC_number= $\langle 2.4.2.12 \rangle$), відомого ще як PBEF (pre-B cell-enhancing factor 1), або visfatin, проводили із такими праймерами 5'- TCTTCACGGTGGAAAACACA -3' — прямий та 5'- GCTCCTATGCCAGCAGTCTC -3' — зворотний (GenBank NM_005746), ензиму PLOD2 (procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2; EC_number= $\langle 1.14.11.4 \rangle$), відомого ще як telopeptide lysyl hydroxylase (TLH), — прямий 5'- CACTGAAGTCTTTGCAGGC -3' і зворотний 5'- CAGCSTTTTCGTGGTACTC -3' (GenBank NM_000935), *FBN1* (fibrillin 1) — прямий 5'- GACATCAATCTGTGCGGGTC -3' та зворотний 5'- CAACACACTGGTCCACTGG -3' (GenBank NM_000138), а IFRD (interferon-related developmental regulator 1), відомого ще як nerve growth factor-inducible protein PC4, — 5'- TGCATGGACACTACTGCTGA -3' — прямий та 5'- CTGAAAACCTGACCGTCTT -3' — зворотний (GenBank NM_001550). Відносну кількість транскриптів досліджених генів нормалізували за рівнем експресії бета-актину (*ACTB*), для ампліфікації якого використовували наступні праймери: прямий — 5'- GGACTTCGAGCAAGAGATGG -3' та зворотний — 5'- AGCACTGTGTTGGCGTACAG -3'; результати представляли у відсотках від контролю (100%) як $M \pm m$. Аналіз результатів виконували за допомогою спеціальної комп'ютерної програми Differential expression calculator, а статистичний аналіз — як описано раніше [11].

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження з вивчення експресії генів поліфункціональних ензимів NAMPT та PLOD2, а також *FBN1* та *IFRD* у клітинах крові підлітків з ожирінням, які мали як

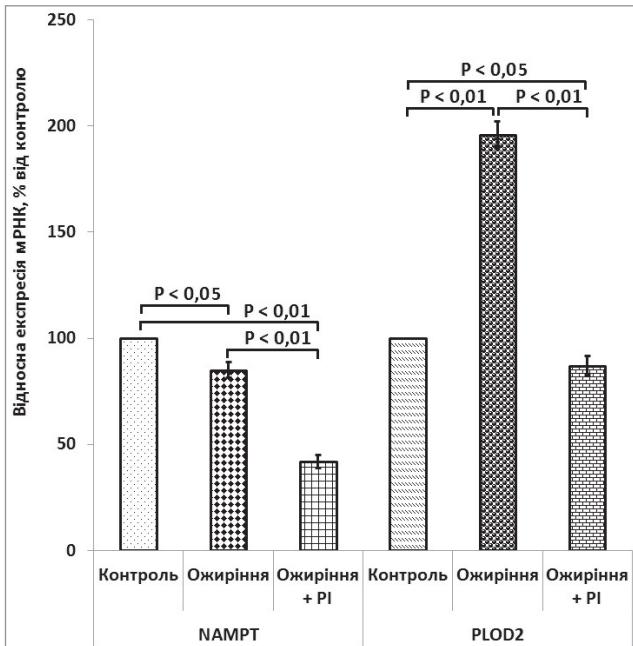


Рис. 1. Відносний рівень експресії генів поліфункціональних ензимів NAMPT (nicotinamide phosphoribosyltransferase), відомого ще як PBEF (pre-B cell-enhancing factor 1) та PLOD2 (procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2) у клітинах крові підлітків з ожирінням без порушення чутливості до інсуліну (Ожиріння), а також з ожирінням, ускладненим резистентністю до інсуліну (Ожиріння + PI), за даними кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. Контролем слугувала група підлітків без ознак ожиріння (Контроль). Величину експресії цих генів нормалізували по експресії бета-актину, причому рівень експресії досліджених генів у контролі був прийнятим за 100%; n=5

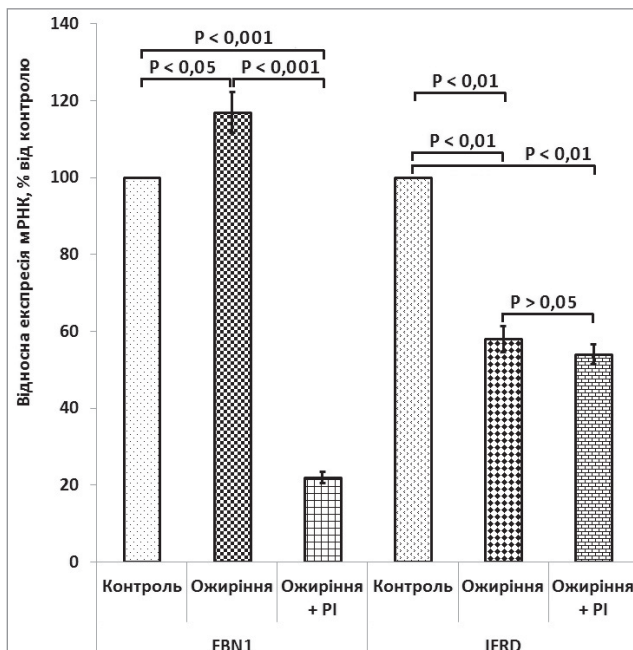


Рис. 2. Відносний рівень експресії генів FBN1 та IFRD у клітинах крові підлітків з ожирінням без порушення чутливості до інсуліну (Ожиріння), а також з ожирінням, ускладненим резистентністю до інсуліну (Ожиріння + PI), за даними кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. Контролем слугувала група підлітків без ожиріння (Контроль). Величину експресії генів FBN1 та IFRD нормалізували по рівню експресії бета-актину, причому рівень експресії цих генів у контролі був прийнятим за 100%; n=5

нормальну, так і порушену чутливість до інсуліну, були проведені для виявлення можливих молекулярних механізмів розвитку метаболічних ускладнень ожиріння, пов'язаних із порушенням чутливості до інсуліну. На рис. 1, видно, що рівень експресії гену *NAMPT* знижується (-15%), а гену *PLOD2* — істотно посилюється (+96%) у клітинах крові дітей за умов ожиріння без наявності ознак резистентності до інсуліну порівняно з контрольною групою. Водночас порушення чутливості до інсуліну на тлі ожиріння асоціюється з більш виразними змінами у рівні експресії гену *NAMPT* (-58%) порівняно з контрольною групою підлітків, а при порівнянні з групою дітей з ожирінням без істотних змін у чутливості до інсуліну рівень експресії цього гену був меншим вдвічі. Розвиток резистентності до інсуліну у підлітків з ожирінням змінює рівень експресії гену *PLOD2* у протилежному напрямку по відношенню до тих змін, що спостерігалися за ожиріння і нормальної чутливості до інсуліну. Так, рівень експресії гену *PLOD2* знижується у підлітків з ожирінням за умов резистентності до інсуліну порівняно з групою дітей з ожирінням без істотних змін у чутливості до інсуліну у понад двічі — до рівня, що на 13% менший за рівень експресії цього гену у контрольній групі підлітків (рис. 1). Таким чином, рівень експресії генів цих двох поліфункціональних ензимів у клітинах крові змінюється по-різному за умов ожиріння у підлітків, які мали нормальну чутливість до інсуліну, але розвиток резистентності до інсуліну на тлі ожиріння істотно знижує інтенсивність експресії обох генів, що свідчить про можливу причетність поліфункціональних ензимів *NAMPT* та *PLOD2* до розвитку метаболічних ускладнень за ожиріння, пов'язаних із порушенням чутливості до інсуліну.

Результати дослідження рівня експресії гену *FBN1*, що кодує великий за розміром глікопротеїн міжклітинного матриксу, який є структурним компонентом позаклітинних кальцій-зв'язуючих мікрофібрил, наведені на рис. 2. Установлено, що рівень експресії цього гену підвищується на 17% у клітинах крові за умов ожиріння без порушення чутливості до інсуліну порівняно з контрольною групою підлітків. Водночас рівень експресії гену *FBN1* різко знижується у клітинах крові за умов розвитку резистентності до інсуліну на тлі ожиріння — у 5,3 разу порівняно з групою підлітків з ожирінням без істотних змін у чутливості до інсуліну, причому при порівнянні з контрольною групою обстежених підлітків рівень експресії цього гену у клітинах крові був меншим у 4,5 разу (рис. 2).

Також досліджували рівень експресії гену *IFRD*, що кодує синтез залежного від інтерферону регулятора розвитку, який індукується фактором росту нервів, у клітинах крові підлітків за умов ожиріння з нормальною чутливістю до інсуліну та з резистентністю до нього. Як видно на рис. 2, рівень експресії гену *IFRD* у клітинах крові за умов ожиріння без порушення чутливості до інсуліну знижувався майже вдвічі (-42%) порівняно з контрольною групою підлітків, але розвиток резистентності до інсуліну істотно не змінював рівень експресії цього гену порівняно з групою підлітків з ожирінням і нормальною чутливістю до інсуліну.

Таким чином, у клітинах крові підлітків за умов ожиріння без резистентності до інсуліну по-різному змінюється рівень експресії генів *NAMPT*, *PLOD2*, *FBN1* та *IFRD*, що свідчить про можливий внесок досліджених генів у розвиток ожиріння. Результати дослідження узгоджуються з даними інших авторів про участь протеїнів, які кодуються цими генами, у регуляції численних процесів

у клітинах не лише в нормі, але за різноманітної патології [9,12,13,15]. Так, виявлене нами зниження рівня експресії гена *NAMPT* у клітинах крові підлітків з ожирінням за умов нормальної чутливості до інсуліну і ще більше зниження рівня експресії цього гена за умов резистентності до інсуліну повністю узгоджується з функцією *NAMPT* як адипокіну, що має антидіабетичні властивості, оскільки цей поліфункціональний протеїн активує рецептор інсуліну, знижує рівень глюкози в крові і покращує чутливість до інсуліну [12,15].

Нами також показано, що за умов ожиріння без ускладнення резистентністю до інсуліну спостерігається збільшення рівня експресії генів *PLOD2* і *FBN1*, білкові продукти яких беруть участь у ремоделюванні позаклітинного матриксу та формуванні кальцій-зв'язуючих мікрофібрил, що узгоджується з даними літератури [9] про важливу роль цих протеїнів у контролі різних сторін метаболізму та процесів проліферації. Водночас за умов розвитку резистентності до інсуліну на тлі ожиріння спостерігається різке зменшення рівня експресії обох цих генів, як *PLOD2*, так і *FBN1*, у клітинах крові порівняно з групою підлітків, які мали ожиріння з нормальною чутливістю до інсуліну, що, можливо, свідчить про залежність експресії цих генів, як і проліферативних процесів, від ефективності дії інсуліну, що є важливим фактором росту і метаболізму [2,8].

Встановлено, що рівень експресії генів поліфункціональних ензимів *NAMPT* і *PLOD2*, а також протеїну позаклітинного матриксу *FBN1* та залежного від інтерферону регулятора розвитку *IFRD*, які задіяні у регуляції процесів метаболізму, суттєво порушується у клітинах крові підлітків за умов ожиріння, як з нормальною, так і пригніченою чутливістю до інсуліну, причому з резистентністю

до інсуліну за умов ожиріння асоціюються зміни в експресії трьох досліджених генів (*NAMPT*, *PLOD2* та *FBN1*), що свідчить про можливу їх причетність до розвитку резистентності до інсуліну.

Більше того, з розвитком резистентності до інсуліну на фоні ожиріння корелюють зміни в експресії генів усіх досліджених генів, причому більшою мірою гена *COL5A1*, хоча детальні молекулярні механізми розвитку ожиріння у підлітків, як і його метаболічних ускладнень, зокрема резистентності до інсуліну, заслуговують на подальше всебічне вивчення.

Висновки

1. Встановлено, що у клітинах крові підлітків за умов ожиріння і нормальної чутливості до інсуліну порівняно з контрольною групою дітей посилюється експресія генів *PLOD2* та *FBN1*, а генів *NAMPT* та *IFRD* — знижується, причому більш виразні зміни виявлені для генів *PLOD2* та *IFRD*.

2. Розвиток резистентності до інсуліну за умов ожиріння призводить до подальшого зниження рівня експресії генів *PLOD2* та *FBN1*, а також подальшого зниження рівня експресії гена *NAMPT* у клітинах крові підлітків порівняно з групою дітей, що мали ожиріння і нормальну чутливість до інсуліну.

3. Отримані результати свідчать про те, що у клітинах крові за умов ожиріння порушується експресія групи генів, які кодують поліфункціональні ензими та протеїни позаклітинного матриксу та залежного від інтерферону регулятора розвитку і контролюють процеси метаболізму, і що резистентність до інсуліну за умов ожиріння асоціюється зі змінами в рівні експресії генів *NAMPT*, *PLOD2* та *FBN1*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Експресія генів *ALDOC*, *TIGAR*, *ENO1* та *ENO2* у крові дітей чоловічої статі з ожирінням, ускладненим резистентністю до інсуліну / Тяжка О. В., Мінченко Д. О., Молявко О. С. [та ін.] // Сучасна педіатрія. — 2014. — № 6 (62). — С. 112—115.
2. Мінченко Д. О. Молекулярні основи розвитку ожиріння та його метаболічних ускладнень у дітей / Д. О. Мінченко // Сучасна педіатрія. — 2015. — № 2 (66). — С. 109—112.
3. Рівень експресії генів *CLU*, *PCOLCE*, *COL5A1* та *TYMP* у клітинах крові підлітків з ожирінням за резистентності до інсуліну / Мінченко Д. О., Гнатюк О. С., Тяжка О. В., Мінченко О. Г. // Сучасна педіатрія. — 2015. — № 7 (71). — С. 126—131.
4. Сialьованість глікопротеїнів плазматичної мембрани лімфоцитів людини і експресія *NEU1* та *ST6GAL1* мРНК за еритремії / Маслак Г. С., Костюк О., Мінченко Д. О. [та ін.] // Фізіол. журн. — 2014. — Т. 60, № 5. — С. 14—22.
5. A pilot investigation of visceral fat adiposity and gene expression profile in peripheral blood cells / Yamaoka M., Maeda N., Nakamura S. [et al.] // *PLoS One*. — 2012. — Vol. 7, № 10. — P. 47377.
6. Adipose hypothermia in obesity and its association with period homolog 1, insulin sensitivity, and inflammation in fat / Yamaoka M., Maeda N., Takayama Y. [et al.] // *PLoS One*. — 2014. — Vol. 9, № 11. — P. 112813.
7. Endoplasmic reticulum and the unfolded protein response: dynamics and metabolic integration / Bravo R. L., Parra V., Gatica D. [et al.] // *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* — 2013. — Vol. 301. — P. 215—290.
8. Han J. Measurement of the unfolded protein response to investigate its role in adipogenesis and obesity / J. Han, R. J. Kaufman // *Methods Enzymol.* — 2014. — Vol. 538. — P. 135—150.
9. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) promotes extracellular matrix remodeling under hypoxic conditions by inducing P4HA1, P4HA2, and PLOD2 expression in fibroblasts / Gilkes D. M., Bajpai S., Chaturvedi P. [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2013. — Vol. 288, № 15. — P. 10819—10829.
10. Impairment of peripheral circadian clocks precedes metabolic abnormalities in ob/ob mice / Ando H., Kumazaki M., Motosugi Y., Ushijima K. [et al.] // *Endocrinology*. — 2011. — Vol. 152, № 4. — P. 1347—1354.
11. Oxidized phospholipids stimulate angiogenesis via induction of VEGF, IL-8, COX-2 and ADAMTS-1 metalloprotease, implicating a novel role for lipid oxidation in progression and destabilization of atherosclerotic lesions / Bochkov V. N., Philippova M., Oskolkova O. [et al.] // *Circ. Res.* — 2006. — Vol. 99, № 8. — P. 900—908.
12. Stastny J. Visfatin and its role in obesity development / J. Stastny, J. Bienertova-Vasku, A. Vasku // *Diabetes Metab. Syndr.* — 2012. — Vol. 6, № 2. — P. 120—124.
13. Stress-sensitive regulation of *IFRD1* mRNA decay is mediated by an upstream open reading frame / Zhao C., Datta S., Mandal P. [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2010. — Vol. 285, № 12. — P. 8552—8562.
14. The expression of *TIMP1*, *TIMP2*, *VCAN*, *SPARC*, *CLEC3B* and *E2F1* in subcutaneous adipose tissue of obese males and glucose intolerance / Minchenko D., Ratushna O., Bashta Y. [et al.] // *Cell Bio.* — 2013. — Vol. 2, № 2. — P. 25—33.
15. The relationship of visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor/nicotinamide phosphoribosyltransferase in adipose tissue with inflammation, insulin resistance, and plasma lipids / Chang Y. C., Chang T. J., Lee W. J., Chuang L. M. // *Metab. Clin. Exp.* — 2010. — Vol. 59, № 1. — P. 93—99.

Экспрессия генов NAMPT, PLOD2, FBN1 и IFRD в клетках крови у подростков с ожирением, осложненным резистентностью к инсулину

Д.О. Минченко^{1,2}, О.В. Тяжка¹, О.С. Гнатюк², О.Г. Минченко²

¹Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца, г. Киев, Украина

²Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, г. Киев, Украина

Цель: изучить уровень экспрессии генов, кодирующих энзимы NAMPT и PLOD2, а также протеина внеклеточного матрикса FBN1 и зависимого от интерферона регулятора развития IFRD в крови подростков при ожирении, как с нормальной, так и с нарушенной чувствительностью к инсулину.

Пациенты и методы. Исследования проведены на трех группах подростков в возрасте около 14 лет: без признаков ожирения (контроль) и с ожирением, которые имели как нормальную, так и нарушенную чувствительностью к инсулину. РНК выделяли из клеток крови, уровень экспрессии генов определяли методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. Установлено, что уровень экспрессии генов NAMPT и IFRD снижается, а генов PLOD2 и FBN1, наоборот, увеличивается в клетках крови подростков при ожирении и нормальной чувствительности к инсулину по сравнению с контрольной группой. При развитии резистентности к инсулину на фоне ожирения происходит снижение уровня экспрессии генов PLOD2 и FBN1, а также дополнительное понижение уровня экспрессии гена NAMPT в клетках крови по сравнению с группой подростков с ожирением и нормальной чувствительностью к инсулину. В то же время не было выявлено существенных изменений в экспрессии гена IFRD в клетках крови подростков с ожирением и резистентностью к инсулину по сравнению с группой детей, имевших ожирение без нарушения чувствительности к инсулину.

Выводы. Уровень экспрессии генов полифункциональных энзимов NAMPT и PLOD2, а также протеина внеклеточного матрикса FBN1 и зависимого от интерферона регулятора развития IFRD, которые задействованы в регуляции процессов метаболизма, существенно нарушаются в клетках крови подростков с ожирением, как с нормальной, так и сниженной чувствительностью к инсулину. С развитием резистентности к инсулину при ожирении ассоциируются изменения в экспрессии трех изученных генов (NAMPT, PLOD2 и FBN1), что свидетельствует об их возможной причастности к развитию резистентности к инсулину.

Ключевые слова: ожирение, подростки, резистентность к инсулину, экспрессия генов, NAMPT, PLOD2, FBN1, IFRD, клетки крови.

The expression of NAMPT, PLOD2, FBN1, and IFRD genes in blood cells in the obese adolescents with insulin resistance

D.O. Minchenko^{1,2}, O.V. Tiazhka¹, O.S. Hnatiuk², O.H. Minchenko²

¹National O.O. Bohomolets Medical University, Kyiv, Ukraine

²Palladin Institute of Biochemistry National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Objective. To study the expression of genes encoded enzymes NAMPT and PLOD2 as well as protein of extracellular matrix FBN1 interferon-related developmental regulator IFRD in blood cells of obese adolescents with normal and impaired insulin sensitivity.

Materials and Methods. For this study were used three groups of adolescent boys with mean age 14 years: normal without obesity indication (control) and obese individuals with normal and impaired insulin sensitivity. RNA was extracted from blood cells and the levels of gene expressions were studied using quantitative real-time polymerase chain reaction.

Results. It was shown that the expression level of NAMPT and IFRD genes is decreased, but PLOD2 and FBN1 genes — is increased in the blood cells of obese adolescent boys with normal insulin sensitivity as compared to control group. Development of insulin resistance in obese adolescents leads to suppression of PLOD2 and FBN1 genes expression level and additional down-regulation of NAMPT gene expression in the blood cells as compared to obese adolescent boys with normal insulin sensitivity. At the same time, no significant changes were found in the expression level of IFRD gene in the blood cells of obese adolescents with insulin resistance as compared to obese group with normal insulin sensitivity.

Conclusions. We shown that the expression level of polyfunctional enzymes NAMPT and PLOD2 as well as protein of extracellular matrix FBN1 and interferon-related developmental regulator IFRD, which participate in the regulation of metabolic processes, are significantly deregulated in blood cells in obese adolescents with normal and suppressed insulin sensitivity and that insulin resistance in obesity is associated with changes in the expression level of three studied genes (NAMPT, PLOD2 and FBN1), which possibly can contribute to the development of insulin resistance.

Key words: obesity, adolescents, insulin resistance, gene expressions, NAMPT, PLOD2, FBN1, IFRD, blood cells.

Сведения об авторах:

Минченко Дмитрий Александрович — к.мед.н., доц. каф. педиатрии № 1 НМУ имени А.А. Богомольца. Адрес: г. Киев, ул. М. Коцюбинского, 8-а; тел. (+38 044) 465-17-89.

Тяжка Александра Васильевна — д.мед.н., проф., зав. каф. педиатрии № 1 НМУ имени А.А. Богомольца. Адрес: г. Киев, ул. М. Коцюбинского, 8-а; тел. (+38 044) 465-17-88.

Гнатюк Оксана Сергеевна — инженер-биохимик отдела молекулярной биологии Института биохимии имени. О.В. Палладина НАН Украины.

Адрес: г. Киев, ул. Леонтовича, 9; тел. (+38 044) 265-61-51.

Минченко Александр Григорьевич — д.биол.н., проф., зав. отдела молекулярной биологии Института биохимии имени. О.В. Палладина НАН Украины.

Адрес: г. Киев, ул. Леонтовича, 9; тел. (+38 044) 265-61-51.

Статья поступила в редакцию 18.03.2016 г.