

# Генетична варіативність за кількістю CAG-повторів у гені андрогенового рецептора чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу, залежно від рівня інсулінемії

В.В. Корпачев,  
Р.Г. Лукашова,  
С.В. Мельниченко,  
О.В. Корпачева-  
Зінич,  
А.В. Ковальчук,  
Н.М. Кушнарева

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

**Резюме.** Підтверджено існування взаємозв'язків між віковим зниженням рівня андрогенів у чоловіків і ризиком розвитку інсулінорезистентності, метаболічного синдрому і гіпогонадізму. У роботі наведено гіпотетичну схему механізмів розвитку цих станів. Є підстава стверджувати, що дослідження гена андрогенового рецептора (*AR*) може стати допоміжним засобом оцінки ризику розвитку ускладнень цукрового діабету 2 типу (ЦД2). Одним із підходів для цього є визначення в гені *AR* кількості поліморфних за довжиною тринуклеотидних повторів цитозин-аденін-гуанін (CAG)<sub>n</sub>. Існує зворотний взаємозв'язок між довжиною CAG-повторів та транскрипційною активністю генів-мішеней тестостерону.

Визначення кількості (CAG)<sub>n</sub> проводили на тлі дослідження антропометричного, ліпідного та гормонального статусу в 42 чоловіків, хворих на ЦД2, віком від 50 до 80 років. Пацієнти лікувались таблетованими цукрознижувальними препаратами і були розподілені на 2 групи залежно від вмісту С-пептиду (у межах 0,75-3,0 нг/мл та понад 3,0 нг/мл) в їх крові. Контрольну групу склали 15 осіб такого ж віку. Додатково до контрольної групи також входили 20 чоловіків відповідного віку, у яких визначали тільки (CAG)<sub>n</sub> у гені *AR*. Визначення (CAG)<sub>n</sub> проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції, використовуючи зразки ДНК, виділені з лейкоцитів крові, із наступним аналізом фрагментів на автоматичному флуоресцентному аналізаторі.

Показано, що в чоловіків похилого віку, хворих на ЦД2, при зростанні рівня С-пептиду поступово знижується кількість тестостерону (Т), як загального, так і вільного, порівняно зі здоровими особами. Зроблено висновок про підвищення тригліцеридів у хворих на ЦД2 чоловіків; найбільш характерно це для чоловіків із рівнем С-пептиду >3,0 нг/мл. Дослідження взаємовідношення між кількістю CAG-повторів у гені *AR* та рівнем андрогенів показало, що в чоловіків, хворих на ЦД2, зменшення (CAG)<sub>n</sub> у гені *AR* супроводжується па-

\* адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. e-mail: zdovado@ukr.net

дінням вмісту Т у крові. Позитивні кореляційні взаємозв'язки між кількістю CAG-повторів і ліпопротеїдами високої і низької щільності виявлено як у групі здорових осіб, так і у хворих на ЦД2 чоловіків.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, андрогени, поліморфізм гена андрогенового рецептора.

Останніми роками дедалі більше обговорюються питання щодо участі статевих гормонів у розвитку метаболічних порушень за цукрового діабету 2 типу (ЦД2). Біологічна дія цих гормонів не обмежується органами репродуктивної системи, а проявляється практично в усіх тканинах організму. На ЦД2 страждають переважно люди похилого віку. Це захворювання розвивається на тлі інволюційних змін і потребує врахування вікових особливостей щодо забезпеченості організму статевими гормонами. Численні дослідження свідчать про участь інсуліну в багатофакторній системі регуляції секреції андрогенів, з одного боку, і про можливість впливу андрогенів на дію інсуліну – з іншого. Інсулін є ендокринним регулятором інтерстиціальних клітин і клітин Лейдіга в чоловіків, стимулює у жінок біосинтез андрогенів у яєчниках та підвищує чутливість їх до лютеїнізуючого гормону (ЛГ) [1,2].

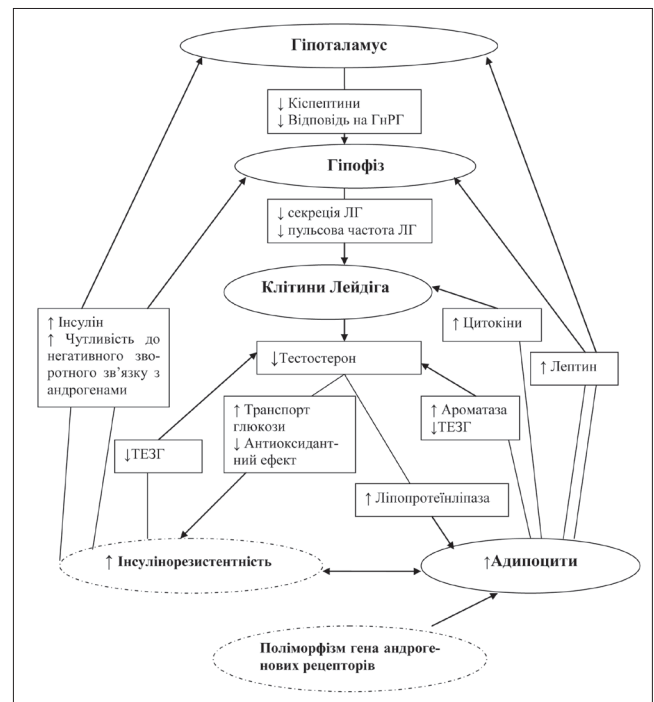
Інсулінорезистентність (ІР) розвивається задовго до клінічного прояву ЦД2 і є одним із патогенетичних механізмів розвитку цього захворювання, зумовлює порушення обміну речовин та асоціюється з ожирінням і серцево-судинними захворюваннями. Доведено існування взаємозв'язку між рівнем тестостерону (Т) у сироватці крові людей і факторами ризику виникнення ІР [3]. Відомо, що в чоловіків кількість Т обернено пропорційно корелює з індексом маси тіла (ІМТ), рівнями інсуліну, лептину та вільних жирних кислот у сироватці крові, кількістю жиру у внутрішніх органах [2,4-6]. Існують факти, що від коливань рівня тестостерон-естрадіолзв'язувального глобуліну (ТЕЗГ) залежить вміст вільного та біологічно активного Т, а рівень ТЕЗГ негативно корелює із вмістом жиру в організмі [7]. Епідеміологічні дослідження дають підставу вважати, що за низького рівня Т у чоловіків і високого – у жінок існує ризик захворювання на ЦД2 або на розвиток метаболічного синдрому (МС) [8-10]. Проте залишається незрозумілою природа кореляції між рівнями андрогенів, ТЕЗГ, маркерами ожиріння, ІР та ЦД2. Андрогени опосе-

редкують свої впливи на органи-мішені через андрогеновий рецептор (AR), який експресується в багатьох тканинах, включно з м'язовою та жировою [11]. Можливо саме розповсюдження AR на клітинах різних типів здатне пояснити зв'язок андрогенової недостатності в чоловіків і ЦД2 або МС (рисунок) [10].

AR належить до родини молекул, що охоплює рецептори стероїдних гормонів. Величезна кількість природних мутацій в AR-гені людини дає важливу інформацію про структуру молекули AR та про її міжмолекулярні взаємодії.

Ген AR розташований на довгому плечі Х-хромосоми в районі Xq11-q12 і складається з восьми екзонів [12,13]. У першому екзоні цього гена знаходяться тринуклеотидні повторювані послідовності, які представлені ланцюжком

**Рисунок.** Механізми, причетні до розвитку інсулінорезистентності, метаболічного синдрому та гіпогонадізму (за R.R. Kalyani та A.S. Dobs [10])



Примітка: ГнРГ – гонадотропін рилізінг-гормон.

## Оригінальні дослідження

тандемних триплетів «цитозин-аденін-гуанін» – CAG. Ці повтори кодують глютаміновий тракт на N-кінці трансактивного домену білка-рецептора для T і за довжиною є поліморфними. Транскрипційна активність комплексу гормона з рецептором обернено корелює з кількістю CAG-повторів (CAG<sub>n</sub>) у послідовності гена андрогенового рецептора [14].

Зроблено припущення, що дія андрогенів (пряма чи непряма) за різних проявів МС може стати зрозумілішою, якщо брати до уваги вплив цього генетично зумовленого ефектора на співвідношення рівня T з ознаками МС [15,16]. Так, при обстеженні чоловіків віком 60-80 років із субнормальним (<11,0 нмоль/л) і нормальним (>11,0 нмоль/л) рівнем загального T було зазначено, що в чоловіків, які мали більше одного компонента МС, кількість CAG-повторів у гені AR була меншою, ніж у тих, які мали тільки одну ознаку МС, або ж у здорових чоловіків. Вважається, що невелика кількість CAG-повторів скоріш за все асоціюється зі збільшенням ризику виникнення МС. Для підтвердження або спростування цього висновку проводились дослідження взаємозв'язку між довжиною поліморфних CAG-повторів у першому екзоні гена AR і показниками ліпідного обміну і рівнем T у чоловіків і жінок різного віку. При розподілі чоловіків на групи за кількістю CAG-повторів у гені AR до та понад 22 повтори було відмічено, що в осіб із більшою кількістю CAG-повторів значно вищі показники маси вільного жиру, ніж за незначної кількості CAG-повторів [17]. Досліджуючи CAG-повтори в чоловіків і жінок похилого віку (51-93 роки), ми зробили висновок, що подібні алейні комбінації міцно асоціюються з індексом центрального ожиріння, особливо в жінок [18]. Однак не можна відкидати й такі дані, які свідчать про незначний вплив поліморфізму CAG-повторів у гені AR на опасистий (з ожирінням) фенотип у загальній людській популяції [19].

Останнім часом з'явилися дані на підтримку гіпотези про вплив андрогенів на резистин – цитокін, який продукується жировою тканиною і якому відводиться певна роль у виникненні ІР. При визначенні взаємозв'язків між поліморфізмом гена AR і рівнем резистину, показниками ІР, ІМТ, рівнями лептину, С-пептиду, глюкози, співвідношенням об'ємів талії та стегон виявилось, що в чоловіків довжина CAG-повторів у гені AR асоціюється тільки з концентрацією резистину і обернено корелює з рівнем С-пептиду та ІР [20].

Набір генів, причетних до виникнення ЦД2, включає кілька самостійних груп, які контролюють

обмін глюкози, інсуліну, ліпідів, статевих гормонів, імунних реакцій тощо. Невідомо, наскільки в кожного хворого будуть ушкоджені ті чи інші генетичні ланки, і, відповідно, які зміни відбуватимуться в метаболізмі. Своєчасне виявлення слабкої ланки – необхідна умова правильної терапії. Із наведених вище даних та рисунка випливає, що поліморфізм CAG-повторів у гені AR є одним з «пускових» механізмів, здатних призвести до змін не тільки в андрогеновому забезпеченні організму, але й в інших його метаболічних системах.

Згідно з даними багатьох дослідницьких груп, із віком у чоловіків, хворих на ЦД2, рівні T, ТЕЗГ і деяких андрогенних метаболітів теж знижуються, як і в групі чоловіків без ЦД2, але ці показники на 10-15% нижчі [21, 22]. Вважається, що достатні рівні T підвищують чутливість до інсуліну, а однією з причин ІР є зменшення продукції T у чоловіків. Враховуючи це, визначення кількості CAG-повторів у гені AR хворих на ЦД2 може бути допоміжним засобом для дослідження механізмів, причетних до виникнення ЦД2.

Наскільки відомо з літературних джерел, вивчення CAG-повторів у гені AR у пацієнтів, хворих лише на ЦД2, до останнього часу проводилось досить обмежено і, так само, як і для осіб без діабету, воно стосувалось головним чином дослідження взаємозв'язку цього параметра з рівнями інсуліну, глюкози, статевих гормонів та показниками ліпідного обміну.

Метою проведеної роботи є визначення кількості поліморфних за довжиною тринуклеотидних повторюваних послідовностей «цитозин-аденін-гуанін» (CAG)<sub>n</sub> у гені AR, що кодують глютаміновий тракт на N-кінці трансактивного домену білка-рецептора T і дослідження взаємозв'язку між цим показником та антропометричними даними, рівнями статевих гормонів, показниками вуглеводного та ліпідного обміну в чоловіків похилого віку, хворих на ЦД2, залежно від рівня інсулінемії.

## Матеріали та методи

Визначення кількості CAG-повторів – (CAG)<sub>n</sub> проводили на тлі антропометричного і гормонального обстеження 42 чоловіків, хворих на ЦД2, у віці від 50 до 80 років. Усі хворі перебували на лікуванні у відділенні вікової ендокринології та клінічної фармакології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» та отримували тільки таблетовані цукрознижувальні препара-

ти. Контрольну групу склали 15 здорових чоловіків відповідного віку з відділення клінічної фізіології та патології внутрішніх органів ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», які проходили регулярні диспансерні медичні огляди. Додатково до контрольної групи також входили 20 чоловіків відповідного віку, у яких визначали тільки (CAG)<sub>n</sub> у гені *AR*. Антропометричні дані та результати визначення гормонів у цих осіб у роботі не наводяться. Усі чоловіки дали письмову згоду на участь у дослідженні.

Пацієнтів із ЦД2 розподілили на 2 групи залежно від вмісту С-пептиду в їх крові. До однієї з них увійшли хворі, у яких рівень С-пептиду був у межах референтних значень (0,75-3,0 нг/мл), а до другої – такі, у яких вміст С-пептиду становив понад 3,0 нг/мл. Першу з цих груп умовно визначали як групу хворих із нормоінсулінемією, другу – як групу хворих із гіперінсулінемією. Такий підхід вважали цілком коректним, оскільки в клінічній практиці вибір тактики лікування хворих, зокрема призначення інсулінотерапії, частіше базується на визначенні С-пептиду, вміст якого в крові корелює зі вмістом інсуліну. Слід також зазначити, що рівень інсуліну в крові як здорових осіб, так і хворих на ЦД2, залежить від способу життя людини, фізичного навантаження і часто коливається впродовж доби. Можливо, розподіл хворих на ЦД2 на групи залежно від рівня інсулінемії дасть змогу зрозуміти глибинні механізми взаємовідносин між окремими показниками вуглеводного обміну та рівнем статевих гормонів у хворих на ЦД2 з урахуванням особливостей гена *AR*.

Загальну характеристику всіх обстежених чоловіків і результати визначення вмісту гормонів в їх крові та показників ліпідного обміну представлено в **табл. 1-3**.

Матеріалом для дослідження (CAG)<sub>n</sub> у гені *AR* слугували препарати ДНК, виділені за загальноприйнятою методикою з лейкоцитів крові людей шляхом гідролізу лізатів клітин протеїназою K із наступною екстракцією фенолом. Якість препаратів визначали за спектральними характеристиками та за допомогою електрофорезу в 0,6% агарозному гелі. Ампліфікацію ділянки (CAG)<sub>n</sub> першого екзону гена *AR* здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із використанням відповідних праймерів і температурно-часових режимів. Продукти ПЛР аналізували в 1,8% агарозному гелі. Аналіз фрагментів отриманих ділянок ДНК, мічених флуоресцентною міткою Су 5, здійснювали на аналізаторі «A.L.F.-Express»

(«Amersham Pharmacia Biotech», Швеція). Після сканування гелі аналізували з використанням програми ALF-win Sequence Analyser 2.11 [23]. Дослідження поліморфізму гена *AR* проводили спільно зі співробітниками відділу геноміки людини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Вуглеводний обмін у хворих і здорових людей характеризували за показниками глюкози натще і С-пептиду в їхній крові, а забезпеченість стероїдними статевими гормонами – за рівнем Т (загального і вільного) та естрадіолу. Крім того, в усіх чоловіків було визначено рівні ЛГ і фолікулостимулювального гормону (ФСГ). Вибір зазначених гормональних показників було підпорядковано обраній меті: визначенню співвідношення між статевими гормонами, С-пептидом та поліморфізмом гена *AR* (за кількістю CAG-повторів) у здорових чоловіків і хворих на ЦД2. Усі показники гормонального статусу обстежених чоловіків визначали методом імуноферментного аналізу, застосовуючи набори таких фірм: естрадіол і вільний Т – «DRG», Німеччина; ЛГ, ФСГ, загальний Т – «Іммунотех», Росія; С-пептид – «Monobind», США.

Статистичну обробку даних проводили методом варіаційної статистики за допомогою стандартного пакета статистичного розрахунку даних Microsoft Excel. Достовірність різниці між середніми величинами визначали за критерієм t Стьюдента. Кореляційні взаємозв'язки (r) між різними показниками визначали за Пірсоном. Вірогідність коефіцієнта кореляції r визначали також за допомогою критерію t Стьюдента при  $p < 0,05$ .

## Результати та їх обговорення

Аналіз результатів обстеження чоловіків із контрольної групи та хворих на ЦД2 (**табл.1-3**) дає змогу виявити вірогідну різницю між окремими антропометричними показниками та показниками вуглеводного обміну, які характеризують специфічність перебігу захворювання на ЦД2. Особливо це помітно при порівнянні даних, отриманих при обстеженні груп здорових чоловіків і хворих на ЦД2 з гіперінсулінемією.

При дослідженні показників ліпідного обміну в осіб із контрольної і дослідних груп вірогідну різницю виявлено тільки при визначенні рівня тригліцеридів (**табл. 2**). Не виключено, що застосування препаратів, які запобігають розвитку атеросклерозу, як це мало місце і в наших дослідженнях, сприяє зниженню холестерину, нормалізації рівнів холестерину ліпо-



## Оригінальні дослідження

**Таблиця 1.** Антропометричні дані чоловіків, хворих на ЦД2 з різним рівнем інсулінемії та чоловіків без ЦД2 (M±m)

| Показники              | Групи обстежених чоловіків |                         |                         |
|------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                        | Контрольна група (n=15)    | Нормоінсулінемія (n=27) | Гіперінсулінемія (n=15) |
| Вік, роки              | 56,64±3,36                 | 57,60±2,14              | 50,42±2,82              |
| Зріст, см              | 177,78±2,19                | 179,85±1,49             | 179,09±1,28             |
| Вага, кг               | 89,02±3,00                 | 102,93±2,96***          | 110,91±4,21***          |
| ОТ, см                 | 98,13±2,61                 | 109,19±2,21**           | 114,29±4,85*            |
| ОС, см                 | 105,13±3,33                | 106,81±2,22             | 112,33±1,91             |
| ІМТ, кг/м <sup>2</sup> | 28,01±0,51                 | 31,87±0,72***           | 34,66±1,16***           |

Примітки: \* - різниця з контрольною групою вірогідна (\* -  $p < 0,01$ , \*\* -  $p < 0,002$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ ); ОТ - обвід талії; ОС - обвід стегон; ІМТ - індекс маси тіла

**Таблиця 2.** Показники ліпідного обміну в чоловіків, хворих на ЦД2 (M±m)

| Показники             | Групи обстежених чоловіків |                         |                         |
|-----------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                       | Контрольна група (n=15)    | Нормоінсулінемія (n=27) | Гіперінсулінемія (n=15) |
| Холестерин, ммоль/л   | 4,98±0,40                  | 5,58±0,18               | 5,49±0,26               |
| Тригліцериди, ммоль/л | 1,21±0,30                  | 2,09±0,21*              | 2,69±0,53*              |
| ХС ЛПВЩ, ммоль/л      | 1,21±0,11                  | 1,12±0,07               | 1,14±0,18               |
| ХС ЛПНЩ, ммоль/л      | 3,22±0,37                  | 3,49±0,16               | 3,04±0,25               |

Примітки: \* - різниця з контрольною групою вірогідна ( $p < 0,05$ ); ХС ЛПВЩ - холестерин ліпопротеїдів високої щільності; ХС ЛПНЩ - холестерин ліпопротеїдів низької щільності

протеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ) та холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ), проте не впливає на рівень тригліцеридів. На негативний зв'язок між низькими рівнями загального Т і високими показниками тригліцеридів у чоловіків похилого віку вказують також інші автори [24]. Припускають, що при гіпотестостеронемії знижується активність печінкової ліпази, яка здійснює гідроліз тригліцеридів, і внаслідок цього рівень тригліцеридів підвищується. До речі, лікування статинами чоловіків, хворих на ЦД2, супроводжується зниженням рівнів загального, але не біодоступного або вільного Т, що може призвести до помилкових висновків при оцінці андрогенового статусу чоловіків [25].

Підтвердженням наявних у літературі і наведених вище даних є зменшення кількості загального і вільного Т у хворих на ЦД2, особливо в чоловіків із гіперінсулінемією (табл. 3). Ці показники змінюються поступово і пов'язані зі зниженням рівня С-пептиду. За останніми даними, зниження рівня Т у хворих на ЦД2 спостерігається приблизно у 25%, а в 4% хворих він вищий за субнормальний [26]. Аналогічні результати одержано і в наших дослідженнях, що пояснює розбіжності даних при визначенні вмісту Т.

В усіх обстежених нами чоловіків, як здорових, так і хворих на ЦД2, незалежно від вмісту С-пептиду, відмічено підвищений рівень естра-

діолу. Проте слід зауважити, що всі обстежені особи були старшими за 50 років, а, як відомо, у чоловіків рівень цього гормону в крові підвищується з віком.

Також встановлено, що у хворих на ЦД2 при підвищенні інсулінемії спостерігаються зміни рівня ЛГ. Незважаючи на те, що отримані дані перебувають у межах референтних значень, у хворих на ЦД2 з нормоінсулінемією рівень ЛГ вірогідно підвищується порівняно з контрольною групою. Водночас при гіперінсулінемії рівень ЛГ є вищим порівняно з контрольною групою, але нижчим, ніж у групі з нормоінсулінемією. Стосовно ФСГ можна відмітити деяке (проте не вірогідне) зменшення його рівня лише при суттєвому підвищенні рівня С-пептиду. Інші дослідники спостерігали у хворих на ЦД2 зниження рівней ЛГ і ФСГ [26,27]. Проте такі висновки зроб-

лено дещо за інших умов; наприклад, у хворих на ЦД2 з ожирінням та без розподілу хворих на тих, які лікуються інсулінами або пероральними цукрознижувальними засобами.

При дослідженні поліморфізму гена AR у чоловіків, хворих на ЦД2, і в здорових осіб найчастіше знаходили алельний варіант із 22 (CAG)n. У контрольній групі зареєстровано 10 варіантів у діапазоні від 18 до 27 (CAG)n, а в групах із нормоінсулінемією і гіперінсулінемією – 11 і 8 варіантів відповідно. Незважаючи на те, що середні значення (CAG)n у гені AR у контрольній групі і в чоловіків, хворих на ЦД2, достеменно не відрізнялись, у хворих із гіперінсулінемією – спостерігалось більше алельних варіантів гена AR з меншим, ніж 22 (CAG)n. Саме ця група хворих характеризувалась не тільки високим вмістом С-пептиду, а й низьким рівнем Т.

На користь позитивної кореляції вмісту Т із довжиною (CAG)n свідчать результати досліджень, проведених науковими колективами різних країн із залученням великої кількості здорових чоловіків [17,28]. Обстеженню підлягали особи різних вікових категорій, проте частіше це були чоловіки похилого віку з кількох незалежних популяцій. Іноді дослідження проводились у динаміці – через 8-10 років після першого визначення Т та (CAG)n [29]. Встановлено, що рівень Т був вищим у чоловіків із довгими (CAG)n, і, крім того, із віком рівні загального і

вільного Т швидше і більшою мірою знижувалися в чоловіків із коротшими (CAG)<sub>n</sub> [30,17]. Подібні результати отримано і при обстеженні хворих на ЦД2 чоловіків, проте такі висновки стосувались тільки біодоступного Т [31]. Дослідження поліморфізму гена AR за кількістю (CAG)<sub>n</sub> та взаємозв'язок його з рівнем Т у крові чоловіків часто проводили в комплексі з визначенням ЛГ та ФСГ. Із цих даних зроблено висновок, що меншій кількості (CAG)<sub>n</sub> притаманний знижений рівень ЛГ і підвищений – ФСГ [28,31]. У наших дослідженнях рівні цих гормонів перебували в межах референтних значень.

Визначення можливості моделювання генотипом AR рівня андрогенів, як повідомлялось у наведених вище роботах, часто проводилось на тлі антропометричного обстеження здорових чоловіків похилого віку та дослідження вмісту в їх крові гормонів, і це вносило свої корективи до зроблених висновків. У результаті таких досліджень позитивна кореляція між довжиною (CAG)<sub>n</sub> та Т не підтвердилася після врахування ІМТ та обводу талії (ОТ) і стегон (ОС) [15]. Крім того, виявилось, що чоловіки з подовженістю (CAG)<sub>n</sub> у гені AR, меншою за 21, мають підвищені рівні глюкози натще, С-пептиду та глікозильованого гемоглобіну.

У літературі широко обговорюється питання про здатність поліморфізму CAG-повторів гена AR модулювати вплив Т на будову організму. Наприклад, у роботі [32] стверджується про позитивну незалежну кореляцію довжини (CAG)<sub>n</sub> та вмісту жиру в організмі молодих (до 50 років) здорових чоловіків. Автори роботи [17] також відмітили позитивний взаємозв'язок довжини (CAG)<sub>n</sub> з масою тіла (без урахування жиру), але тільки в чоловіків віком 55-93 роки. Висновок про таке співвідношення між кількістю (CAG)<sub>n</sub> у гені AR та масою тіла зроблено і в роботі [31] при обстеженні хворих на ЦД2. Проте існують і дані про негативний зв'язок між довжиною CAG-повторів ( $\leq 23$ ) та результатами вимірювання обводу талії та стегон при ожирінні [18].

У нашій роботі при дослідженні взаємовідношень між кількістю CAG-повторів у гені AR та показниками ліпідного обміну виявлено позитивний кореляційний взаємозв'язок із ХС ЛПВЩ у групах здорових чоловіків та хворих

**Таблиця 3.** Рівні гормонів та поліморфізм гена AR (за кількістю CAG-повторів) у чоловіків, хворих на ЦД2 (M $\pm$ m)

| Показники               | Групи обстежених чоловіків |                         |                         |
|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                         | Контрольна група (n=15)    | Нормоінсулінемія (n=27) | Гіперінсулінемія (n=15) |
| Глюкоза натще (ммоль/л) | 4,81 $\pm$ 0,14            | 8,71 $\pm$ 0,43 ***     | 10,57 $\pm$ 0,65 ***    |
| С-пептид (нг/мл)        | 1,68 $\pm$ 0,24            | 1,99 $\pm$ 0,12         | 4,15 $\pm$ 0,21***      |
| Т загальний (нмоль/л)   | 19,24 $\pm$ 2,7            | 15,72 $\pm$ 1,22        | 7,28 $\pm$ 1,17***      |
| Т вільний (пг/мл)       | 16,07 $\pm$ 1,6            | 11,65 $\pm$ 1,03*       | 10,70 $\pm$ 3,78        |
| Естрадіол (пг/мл)       | 40,54 $\pm$ 6,85           | 59,81 $\pm$ 14,90       | 36,08 $\pm$ 8,59        |
| ЛГ (МО/л)               | 3,12 $\pm$ 0,57            | 5,61 $\pm$ 0,82**       | 4,47 $\pm$ 1,33         |
| ФСГ(МО/л)               | 6,33 $\pm$ 1,45            | 6,47 $\pm$ 0,86         | 4,82 $\pm$ 0,83         |
| (CAG) <sub>n</sub>      | 22,47 $\pm$ 0,79           | 22,56 $\pm$ 0,52        | 20,86 $\pm$ 0,59        |

Примітки: 1) Додатково до контрольної групи також входили 20 чоловіків відповідного віку, у яких визначали тільки (CAG)<sub>n</sub> у гені AR;

2) \* - різниця з контрольною групою вірогідна (\* – p<0,05, \*\* – p<0,02, \*\*\* – p<0,001).

на ЦД2 з гіперінсулінемією (r=0,69 та r=0,70 відповідно), а також із ХС ЛПНЩ у групі хворих на ЦД2 з нормоінсулінемією (r=0,45). Незважаючи на те, що отримані нами результати частково збігаються з наявними науковими даними, зокрема це стосується взаємозв'язків між кількістю (CAG)<sub>n</sub> у гені AR та рівнем Т у хворих на ЦД2, остаточний висновок про зв'язок цього генетичного фактора з дефіцитом андрогенів, статуєю, ІР у чоловіків із ЦД2 потребує подальших досліджень із залученням значної кількості хворих. Для остаточних висновків важливим доповненням може бути ретельний відбір хворих на ЦД2 за окремими показниками (рівнями С-пептиду та інсуліну, тривалістю захворювання тощо).

## Висновки

1. У чоловіків, хворих на ЦД2 і старших за 50 років, при зростанні рівня С-пептиду спостерігається поступове і вірогідне зниження вмісту загального Т порівняно з контрольною групою. Вірогідне зниження вільного Т доведено тільки у хворих на ЦД2 з нормоінсулінемією. У хворих із гіперінсулінемією вміст вільного Т також має тенденцію до зниження, проте розбіжності показників вільного Т у них досить значні.
2. Показано, що рівень тригліцеридів значно вищий у хворих на ЦД2 з гіперінсулінемією, ніж у пацієнтів із нормоінсулінемією.
3. Досліджено взаємовідношення між кількістю CAG-повторів у гені AR та рівнями андрогенів і зроблено попередній висновок про те, що зменшення кількості (CAG)<sub>n</sub> супроводжується зниженням рівня Т (загального і вільного).
4. При дослідженні взаємовідношень між кіль-

## Оригінальні дослідження

кстю CAG-повторів у гені AR та показниками ліпідного обміну виявлено позитивні кореляційні взаємозв'язки з ХС ЛПВЩ у групах здорових чоловіків та хворих на ЦД2 з гіперінсулінемією ( $r=0,69$  та  $r=0,70$  відповідно), а також із ХС ЛПНЩ – у групі хворих на ЦД2 з нормоінсулінемією ( $r=0,45$ ).

**Подяка**

Автори висловлюють щирю подяку колективу співробітників відділу геноміки людини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, м. Київ (керівник відділу – доктор біологічних наук, професор Лівшиць Л.А.) за допомогу при проведенні дослідження поліморфізму CAG повторів у гені AR.

**Список використаної літератури**

1. Дедов И.И., Калиниченко С.Ю. Возрастной андрогенный дефицит у мужчин // М.: Практическая медицина, 2006. 240 с.
2. Тронько М.Д., Корпачева-Зинич О.В. Стероїдні гормони і цукровий діабет // Київ: Книга-плюс, 2010. 198с.
3. Kapoor D., Malkin C.J., Channer K.S., Jones T.N. Androgens, insulinresistance and vascular disease in men // Clin. Endocrinol. 2005, 63, 239-250.
4. Behre H.M., Simoni M., Nieschlag E. Strong association between serum levels of leptin and testosterone in men // Clin. Endocrinol (Oxf). 1997, 47, 237-240.
5. Marin P., Krotkiewski M., Bjorntorp P. Androgen treatment of middle-aged, obese men: effects on metabolism, muscle and adipose tissue // Eur. J. Med. 1992, 1, 329-336.
6. Buchter D., Behre H.M., Kliesch S. et al. Effects of testosterone suppression in young men by the gonadotropin releasing hormone antagonist cetrorelix on plasma lipids, lipolytic enzymes, lipid transfer proteins, insulin, and leptin // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1999, 107, 522-529.
7. Vermeulen A., Verdone K., Kaufman J.M. A critical evaluation of simple methods for estimation of free testosterone in serum // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1999, 84, 3666-3672.
8. Oh J.Y., Barrett-Connor E., Wedick N.M., Wingard D.L. Endogenous sex hormones and development of type 2 diabetes in older men and women: the rancho Bernardo study // Diabetes Care. 2002, 25, 55-60.
9. Farid Saad. The role of testosterone in type 2 diabetes and metabolic syndrome in men // Arg. Bras. Endocrinol. Metab. 2009, 53, 8, 901-907.
10. Kalyani R.R., Dobs A.S. Androgen deficiency, diabetes, and the metabolic syndrome in men // Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes. 2007, 14, N3, 226-234.
11. Snyder P.J. Hypogonadism in elderly men – what to do until the evidence comes // New Journal of Medicine. 2004, 350, 440-442.
12. Gelmann E.P. Molecular biology of the androgen receptor // J. Clin. Oncol. 2009, 20, N13, 3001-3015.
13. Klocker H., Gromoll J., Cato A.C.B. The androgen receptor: molecular biology. In: Behre H.M. [ed.]. Testosterone, action, deficiency, substitution. Cambridge (UK): Cambridge University Press, 2004, p. 39-92.
14. Tut T.G., Ghadessy F.J., Trifiro M.A. et al. Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility // J. Clin. Endocr. Metab. 1997, 82, 3777-3782.
15. Skjarpe P.A., Giwercman Y.L., Giwercman A., Svartberg J. Androgen receptor gene polymorphism and sex hormone hormones in elderly men: the Tromson study // Asian J. Androl. 2009, N12, 222-228.
16. Skjarpe P.A., Giwercman Y.L., Giwercman A., Svartberg J. Androgen receptor gene polymorphism and the metabolic syndrome in 60-80 years old Norwegian men // Int. J. Androl. 2008, Dec. 16 [Epub ahead of print].
17. Walsh S., Zmuda J.M., Cauley J.A. et al. Androgen receptor CAG repeat polymorphism is associated with fat-free mass in men // J. Appl. Physiol. 2005, 98, N1, 132-137.
18. Gustafson D.R., Wen M.J., Koppanati B.M. Androgen receptor gene repeats and indices of older adults // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 2003, 27, N1, 75-81.
19. Wiwanitkit V. CAG repeat polymorphism in the androgen receptor: a study on the effect different numbers of repeats using Gene Ontology technique // Fertil. Steril. 2009, 91, N1, 5-6.
20. Gonzalez Hernandez A., Cabrera de Leon A., Dominguez Coello S. et al. Serum resistin and polymorphism of androgen receptor CAGn and GGN and aromatase TTTAN // Obesity (Silver Spring). 2008, 16, N9, 2107-2112.
21. Лучицький В.Є. Роль андрогенодефіциту в лікуванні метаболічного синдрому в чоловіків // Ендокринологія. 2010, 15, №2, 279-286.
22. Гурьєва И.В. Общее руководство Международной диабетической Федерации по сахарному диабету 2 типа (краткое изложение) // Сахарный диабет. 2007, №4, 54-56.
23. Фесай О.А., Кравченко С.А., Тьркус М.Я. и др. CAG-полиморфизм гена андрогенового рецептора у мужчин с азооспермией и олигоспермией из Украины // Цитология и генетика. 2009, 43, №6, 45-51.
24. Фролов Д.С., Халилов Ю.Ш., Шустов С.Д. Возрастной андрогенный дефицит у мужчин с ишемической болезнью сердца // Проблемы эндокринологии. 2011, 43, №6, 19-22.
25. Stanworth R.D., Kapoor D., Channer K.S. et al. Statin therapy is associated with lower total but not bioavailable or free testosterone in men with type 2 diabetes // Diabetes Care. 2009, 32, N4, 541-546.
26. Dandona P., Dhindsa S. Update: hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes and obesity // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2011, 96, N9, 2643-2651.
27. Dhindsa S., Prabhakar S., Sethi M. et al. Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004, 89, 5462-5468.
28. Huhtaniemi I.T., Pye S.R., Limer K.L. et al. Increased estrogen rather than decreased androgen action is associated with longer androgen receptor CAG repeats // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2009, 94, N1, 277-284.
29. Krithivas K., Yugalevitch S.M., Mohr B.A. et al. Evidence that the CAG repeat in the androgen levels in men // J. Endocrinol. 1999, 162, 137-142.
30. Crabbe P., Bagaert V., De Bacquer D. et al. Part of the interindividual variation in serum testosterone level in healthy man reflects differences in androgen sensitivity and feedback setpoint: contribution of the androgen receptor polyglutamine tract polymorphism // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2007, 92, N9, 3604-3610.
31. Stanworth R.D., Kapoor D., Channer K.S. et al. Statin use is associated with lower total testosterone levels but not bioavailable or free testosterone in men with type 2 diabetes // Diabetic Medicine. 2007, 24, 135.
32. Zitzmann M., Gromoll J., Eckardstein A., Nieschlag E. The

CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene modulates body fat mass and serum concentration of leptin and insulin in man // *Diabetologia*. 2003, 46, N1, 31-39.

(Надійшла до редакції 5.04.2013)

## Генетическая вариабельность по количеству CAG-повторов в гене рецептора андрогенов у мужчин с сахарным диабетом 2 типа в зависимости от уровня инсулинемии

**В.В. Корпачев, Р.Г. Лукашова, С.В. Мельниченко, О.В. Корпачева-Зинич, А.В. Ковальчук, Н.Н. Кушнарева**

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

**Резюме.** Подтверждено существование взаимосвязи между возрастным снижением уровня андрогенов у мужчин и риском развития инсулинорезистентности, метаболического синдрома и гипогонадизма. В работе приведена гипотетическая схема механизмов развития этих состояний. Есть основание утверждать, что исследование гена андрогеновых рецепторов (*AR*) может стать вспомогательным инструментом при оценке риска развития осложнений сахарного диабета 2 типа (*СД2*). Одним из подходов к этому является определение в гене *AR* количества полиморфных по длине тринуклеотидных повторов цитозин-аденин-гуанин (*CAG*)<sub>n</sub>. Существует обратная взаимосвязь между длиной *CAG*-повторов и транскрипционной активностью генов-мишеней тестостерона.

Определение количества (*CAG*)<sub>n</sub> проводили на фоне исследования антропометрического, липидного и гормонального статуса 42 мужчин с *СД2* в возрасте от 50 до 80 лет. Пациенты получали таблетированные сахароснижающие средства и были разделены на две группы в зависимости от содержания *C*-пептида в их крови (в пределах 0,75-3,0 нг/мл и свыше 3,0 нг/мл). Контрольную группу составили 15 человек соответствующего возраста. Дополнительно в контрольную группу входили 20 мужчин соответствующего возраста, у которых определяли только (*CAG*)<sub>n</sub> в гене *AR*. Исследование (*CAG*)<sub>n</sub> проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции, используя образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов крови с последующим фрагментарным анализом на автоматическом флуоресцентном анализаторе.

Показано, что у мужчин пожилого возраста, болеющих *СД2*, при возрастании уровня *C*-пептида постепенно снижается количество тестостерона (*T*), как общего, так и свободного, в сравнении со здоровыми лицами. Сделан вывод о повышении триглицеридов у мужчин с *СД2*; наиболее характерно это для пациентов с уровнем *C*-пептида >3,0 нг/мл. Исследование взаимосвязи между количеством *CAG*-повторов в гене *AR* и уровнем андрогенов показали, что у мужчин с *СД2* снижение (*CAG*)<sub>n</sub> в гене *AR* сопровождается падением уровня *T* в крови. Положительная корреляционная взаимосвязь между количеством *CAG*-повторов и липопротеидами высокой и низкой плотности выявлена как в группе здоровых лиц, так и больных *СД2* мужчин.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, андрогены, полиморфизм гена андрогеновых рецепторов

## Genetic variability of CAG-repeats in androgen receptor gene in males with type 2 diabetes depending on different insulinemia levels

**V.V. Korpachev, R.G. Lukashova, S.V. Melnytchenko, O.V. Korpacheva-Zinitch, A.V. Kovalchuk, N.M. Kushnareva**

State Institution «V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

**Summary.** Well-known associations have been proved to exist between age-dependent androgen level decrease in males and risk of development of insulin resistance, metabolic syndrome, and hypogonadism. The authors present a hypothetic scheme describing the mechanism of development of these conditions. There are grounds to affirm that an investigation of androgen receptor (*AR*) gene may be a useful additional method permitting to assess the risk of development of type 2 diabetes complications. One of such approaches is determination of polymorphic length *CAG* (cytosine-adenine-guanine) trinucleotide repeats (*CAG*)<sub>n</sub> in the *AR* gene, this length being inversely correlated with the transcriptional activity of target genes of testosterone.

The determination of (*CAG*)<sub>n</sub> length has been carried out parallel with an assessment of anthropometric, lipid, and hormonal status of 42 males with type 2 diabetes aged from 50 to 80 years. These patients were treated with hypoglycemic tablets and were divided into two groups depending on their serum *C*-peptide levels (in the range 0.75-3.0 ng/ml and above 3.0 ng/ml). 15 males of corresponding age formed the control group. Besides, this group included also 20 males of corresponding age for which only (*CAG*)<sub>n</sub> length of the *AR* gene was determined. The (*CAG*)<sub>n</sub> was assessed using the polymerase chain reaction with DNA samples isolated from blood leucocytes, the DNA fragments being analyzed on an automatic fluorescent analyzer.

In elderly males with type 2 diabetes, in the presence of an increase in *C*-peptide level, testosterone (*T*) levels - both total and free *T* - have been shown to decrease gradually compared with healthy subjects. The authors conclude that triglyceride levels in males with type 2 diabetes are increasing; this is especially expressed in males with *C*-peptide levels >3.0 ng/ml. The investigation of interactions between *CAG*-repeats number in the *AR* gene and androgen level shows the decrease in (*CAG*)<sub>n</sub> in this gene to be associated with a reduction in serum *T* levels in males with type 2 diabetes. Positive correlations between *CAG*-repeat length and lipoprotein levels of both high and low density have been found both in healthy males and subjects with type 2 diabetes.

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus, androgens, polymorphism of androgen receptor gene.