

рованої 28-днемним введенням "Омеза<sup>®</sup>", а також при введенні "Симбітера<sup>®</sup> ацидофільного" і "Апібакта<sup>®</sup>". Для дослідження використано 37 самців білих крыс, яких розділили на 4 групи: контрольна і три групи крыс, які отримували "Омеза<sup>®</sup>", "Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний" і "Апібакт<sup>®</sup>". На парафінних срезях товстої кишки були проведені лектиногістохімічні дослідження. При введенні "Омеза<sup>®</sup>" спостерігається зміна картини цитотопографії рецепторів лектинових структурних компонентів слизової оболонки товстої кишки, а також серозної і м'язової оболонок. В групі тварин, які отримували "Апібакт" і "Омеза", цитотопографія рецепторів лектинових наближалася до такої у контрольної з деякими відмінностями. При введенні "Симбітера" і "Омеза" цитотопографія рецепторів лектинових поступово наближається до такої контрольної групи.

**Ключеві слова:** гіпергастрінаемія, слизова оболонка товстої кишки, лектини, "Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний", "Апібакт<sup>®</sup>"

#### Summary

**Radchuk O.M., Beregova T.V., Yaschenko A.M., Rybalchenko V.K.**  
*Influence of multiprobiotics "Symbiter<sup>®</sup> acidophilic" concentrated and "Apibact<sup>®</sup>" on the cytotoptography of lectin receptors under the influence of long-lasting hypergastrinaemia.*

In present study, the cytotoptography of lectin receptors in colonic mucous coat in the presence of long-lasting hypergastrinaemia, caused by administration of "Omez<sup>®</sup>" within 28 days, and during the administration of multiprobiotics "Symbiter<sup>®</sup> acidophilic" concentrated and "Apibact<sup>®</sup>" was investigated. 37 male rats, divided on the 4 groups, were used in the study: the control group and the three ones that have been administrated "Omez", "Symbiter<sup>®</sup>" and "Apibact<sup>®</sup>". Lectin-histochemical study has been performed on the parafin sections of colon. It is established that during "Omez<sup>®</sup>" administration alterations in receptor cytotoptography of structural components of colonic mucous coat are observed. In the group of rats that obtained "Apibact" and "Omez" lectin receptors cytotoptography resembled the same of control with some distinctions. After the administration of "Symbiter" and "Omez" lectin receptors cytotoptography approximates to the same of the control group.

**Key words:** hypergastrinaemia, colonic mucous coat, lectins, "Symbiter<sup>®</sup> acidophilic", "Apibact<sup>®</sup>".

**Рецензент:** д.біол.н., проф.С.М.Смірнов

УДК 616.379-008.9-085:575.191

## ЕФЕКТИВНІСТЬ РОЗІГЛІТАЗОНУ В КОРЕКЦІЇ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД Pro12A1a ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА PPAR $\gamma$

О.В. Степанова

Харківський національний медичний університет

### Вступ

Відкриття ядерного фактору транскрипції, що активується проліфератором пероксисом (PPAR) $\gamma$ , а також наступні дослідження механізмів його дії дозволили синтезувати ряд препаратів-лігандів PPAR $\gamma$ . До цих препаратів належать тiazолідиндіони (ТЗД), застосування яких не тільки значно підвищує чутливість тканин до інсуліну, але й нормалізує низку патофізіологічних проявів метаболічного синдрому (МС) [5,7,8,16,19]. Встановлений ефект цих препаратів в зниженні площі інфаркту, реперфузійних пошкоджень міокарду, запобіганні гіпертрофічних змін [8, 9, 16]. Окрім цього, їм властива протизапальна дія, яка реалізується шляхом пригнічення експресії прозапальних цитокінів [7]. PPAR $\gamma$  бере участь в регуляції процесів метаболізму ліпідів, глюкози, запаленні, росту пухлин, окрім цього є тригером диференціації адипоцитів, стимулюючи експресію ключових генів адипогенезу [6].

Ефекти ТЗД пов'язані з покращенням чутливості до інсуліну, підвищенням рівня холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХСЛПВЩ) (на 5-15%), зниженням рівня тригліцеридів (ТГ) [7,16]. Ефект більш значно виражений на тлі застосування піоглітазону у порівнянні з розіглітазоном. Припускають, що піоглітазон, подібно фібратам, є по способу дії помірним агоністом PPAR $\gamma$ . Клінічними дослідженнями також доведено, що активація PPAR $\gamma$  приводе не тільки до зниження сироваткового рівня вільних жирних кислот (ВЖК), підвищення чутливості до інсуліну печінки та периферичних тканин, але й сприяє зниженню ліпотоксичності в панкреатичних  $\beta$ -кліти-

нах і покращує їх секреторну функцію [9, 14, 19]. Печінка - основна мішень ураження при стані інсулінорезистентності (ІР), фактор ризику прогресування жирової печінки в неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) з притаманним цьому стану запаленням та ризиком прогресування цирозу [1, 2, 31, 32]. Жирова печінка пов'язана з ІР, дисліпідемією, ожирінням, гіпертензією та діабетом [23, 25]. Неалкогольну жирову хворобу печінки (НАЖХП) та НАСГ також вважаються незалежними факторами кардіоваскулярного ризику [3, 5, 26, 27, 30]. Вміст жиру в печінці корелює зі ступенем ІР незалежно від маси тіла і цей зв'язок зумовлений порушенням пригнічення інсуліном ендогенної продукції глюкози [30, 31]. Експериментальними дослідженнями встановлено, що ТЗД можуть значно покращати стан печінки (підвищувати чутливість до інсуліну та знижувати вміст жиру) за умов їх застосовувати на ранніх стадіях жирової хвороби печінки [7]. Результати інших досліджень свідчать, що ТЗД у осіб з НАЖХП не тільки знижують ступінь стеатозу, але й запалення та фіброз [25]. Підвищення чутливості до інсуліну паралельно із зниженням експресії прозапальних генів та модуляція експресії адипокинів суттєво знижують фіброгенез печінки [21, 29, 32]. ТЗД відповідають за перерозподіл ліпідів між жировими депо. Терапевтичний ефект реалізується за допомогою здатності препаратів цієї групи впливати на секрецію жировою тканиною таких потужних регуляторів ліпідного та вуглеводного метаболізму як адипокіни [29, 32]. Розіглітазон та піоглітазон підвищують рівень адипонектину, знижують рівень ретинолзв'язуючого білка та резистину, що значно впливає на метаболізм ліпідів та чутливість до інсуліну. Два препарати розіглітазон і піоглітазон застосовуються для корекції метаболічних порушень характерних для ІР та лікування ЦД2. ТЗД активують PPAR $\gamma$  і модулюють експресію окремих регуляторних генів метаболізму глюкози і ліпідів. Поліморфізм Prol2A1a гена PPARG веде до зниження зв'язування PPAR $\gamma$  з відповідним елементом ДНК, що може знижувати активацію PPAR $\gamma$  лігандами такими як ТЗД [6]. Дослідження зв'язок гену PPARG з метаболічними

порушеннями показало, що варіант Prol2 помірно (в1,25-1,27 рази), але з високим ступенем достовірності збільшує ризик діабету, що надає підставу вважати PPARG діабетогеном.

**Мета** дослідження полягала в оцінці ефективності застосування розіглітазону в зниженні ІР, корекції рівня ліпідів в залежності від поліморфізму Prol2A1a гена PPARG.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Обстежено 80 осіб з ІР (індекс НОМА-ІР-ІРІ 3,5-7,9). Середній вік пацієнтів становив 55 3,5 років. Критерії виключення з дослідження включали лабораторні ознаки інфікування вірусами гепатиту В, С, ЦД 2 типу, перенесені інфаркти та інсульти, важкі супутні захворювання (серцева недостатність, зловживання алкоголем). Антропометричні дослідження включали визначення обхвату талії (ОТ), ваги, зросту, індексу маси тіла (ІМТ) за формулою Кетле:  $ІМТ = МТ : (зріст)^2$ . Активність ферментів печінки аланін амінотрансферази (АлАт), аспарат амінотрансферази (АсАт) визначали за методом Райтмана-Френкеля ("Філісіт-Діагностика", Дніпропетровськ). Активність гамаглутамілтрансферази (ГГт) визначали кинетичним методом з використанням наборів "Діакон-ДС", (Москва, РФ). Рівень НbА1с досліджували фотоколориметричним методом з використанням набору реагентів DAC - SpectroMed S.R.L. (м. Кишинів, Молдова). Нормативними значеннями НbА1с вважали показники в межах (4,4-6,1) %.

Рівень ліпідів сироватки крові визначали ферментативним методом згідно інструкції. Вимірювання проводили мікроспектрофотометром HUMAREIDER (Німеччина) при довжині хвилі 480 - 550 нм. Використовували контрольну сироватку HUMATROL (HUMAN, Німеччина). Рівень глюкози натще визначали глюкозооксидазним методом, імунореактивного інсуліну (ІРІ) - імуноферментним методом згідно інструкції (DRG Products), Німеччина. Індекс НОМА-ІР визначали за формулою:  $НОМА-ІР = \text{інсулін натще (мкОд/мл)} \times \text{глюкоза натще (ммоль/л)} / 22,5$ .

Визначення маленьких щільних часток ліпопротеїнів низької щільності (мШЛПНЩ) з підвищеними атерогенними властивостями визначали додаванням до 0,1 мл досліджуваного зразка

150д/мл розчину геларина та 90 ммоль/л хлориду магнію. Суміш перемішували та витримували 10 хв. при 37°C. Потім зразки переносили на лід і через 15 хв. осад відокремлювали при 13000 об/хв. на протязі 15 хв. Супернатант використовували для визначення ХС мцЛПНЩ за методикою визначення ХС [10].

Дослідження поліморфних варіантів гену проводили на аналізаторі ТП4-ПЦР-01-"Терцик", (Москва) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з попереднім вилученням дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) методом екстракції фенолом та хлороформом. Ампліфікацію проводили з використанням термостабільної Taq полімерази (Fermentas, Латвія) та олігонуклеотидних праймерів:

- CCAATTCAAGCCCAGTCGATATGTTG (прямий)
- CAGACAGTGTATCAGTGAAGGAATCGCTTCCG (зворотній)

за умов: температура відпалу праймерів становила 66° С для 10 циклів та 62° С для наступних 20 циклів. Рестрикційний аналіз проводили за допомогою рестриктази BstUI (New England Biolabs, Inc., Gaithersburg, MD) кількістю 10 Од/пробу на протязі 4 годин при 60°C. Ідентифікацію фрагментів ДНК (ампліфікатів), отриманих ПЛР, проводили горизонтальним електрофорезом в 2% агарозному гелі. Візуалізація фрагментів відбувалася за допомогою ультрафіолетового випромінювача "ЕСХ-15.М"(Франція), відіосистеми "GEL IMAGER 2", "НПФ Біоклон" (м. Москва) та програмного забезпечення "GEL EXPLORER".

НАЖХП визначали за даними ультразвукового дослідження (УЗД) (UP22 Philips). Офісний середній систолічний артеріальний тиск (САТ) та діастолічний артеріальний тиск (ДАТ) крові вимірювали згідно рекомендаціям Американської асоціації кардіологів. Корекція ІР та рівня ліпідів у 80 осіб з ІР та гіпертонічною хворобою (ГХ) II стадії, 1-2 ступеня проводилась розіглітазоном 4 мг/добу з подальшим збільшенням дози до 8 мг/добу на протязі 24 тижнів. Вірогідність отриманих даних оцінювали за критеріями Student's.

#### Отримані результати та їхнє обговорення

На підставі ПЛР, рестрикційного аналізу та горизонтального електрофорезу в агарозному гелі ідентифіковано три geno-

типа: Pro12 Pro (гомозиготи, рестрикційний сайт відсутній), гетерозиготи по сайту рестрикції (Pro12 Ala) та група гомозигот (рестрикційний сайт присутній (Ala12 Ala) (рис.1).

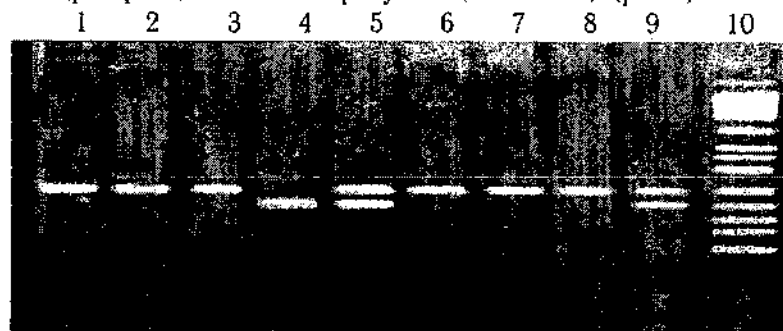


Рисунок 1. Електрофореграма фрагментів ДНК (ампліфікатів): 1, 2, 3, 6, 7, 8- гомозиготи Pro12Pro (рестрикційний сайт відсутній), 5, 9 - гетерозиготи Pro12Ala, 4 - гомозигота Ala12Ala по рестрикційному сайту, 10 - маркер довжини фрагментів ДНК.

Серед 80 обстежених з ІР та ГХ II стадії, 1-2 ступеня генотип Ala12Ala присутній у 2,31%, гетерозиготи Pro12 Ala становили 23,07 % та гомозигот Pro12 Pro - 74,62 %. Розподіл алелей відповідав закону Харді-Вайнберга.

Досліджували вплив поліморфних варіантів гену PPARG у відповідь на застосування розіглітазону на протязі 24 тижнів у осіб з ІР. Аналіз ефективності розіглітазону у осіб з ІР та ГХ II стадії, 1-2 ступеня свідчить, що тенденція до більш значного зростання ваги відзначена серед осіб з генотипом Pro12Pro у порівнянні з Pro12Ala/Ala12 Ala.

Отримані данні свідчать про вплив алелі Ala12 на толерантність до глюкози та чутливість до інсуліну. Присутність алелі Ala12 супроводжується тенденцією до більш високого рівня глюкози натще та НОМА-ІР-ІРІ (відповідно  $6,82 \pm 0,38$  ммоль/л проти  $6,68 \pm 0,40$  ммоль/л,  $p > 0,05$  та  $6,02 \pm 0,67$  мкОд/мл проти  $5,73 \pm 0,52$  мкОд/мл,  $p > 0,05$ ), в той час як рівень ІРІ нижчі ( $17,95 \pm 3,53$  мкОд/мл проти  $21,0 \pm 3,07$  мкОд/мл,  $p > 0,05$ ). Рівень HbA1c серед осіб з Ala12 не відрізняється ( $6,94 \pm 0,09$  % проти  $7,05 \pm 0,09$  %,  $p > 0,05$ ). Аналіз ліпідних

фракцій показав відсутність вірогідної різниці між генотипами: відзначена незначна тенденція до зниження рівня ТГ сироватки крові в групі осіб з алелею Ala12.

Таблиця 1

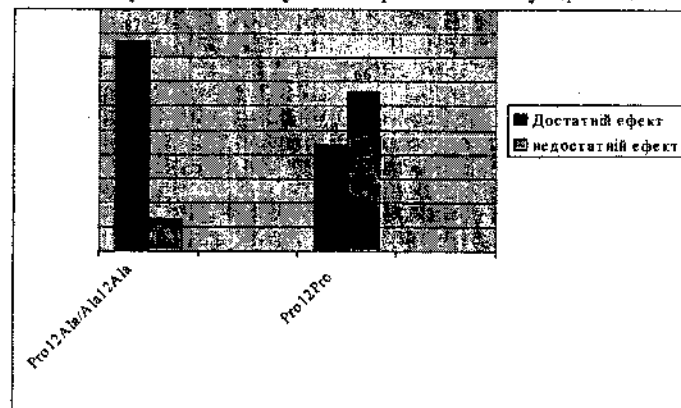
**Корекція інсулінорезистентності, порушень ліпідного обміну, рівня ферментів печінки та жиру печінки розіглітазоном в залежності від Prol2Ala поліморфізму гена PPARG**

Генотип	Prol2Pro		Prol2Ala/ Ala12 Ala		P
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	
Вага (кг)	93,5±0,44	96,2±0,37	95,9±0,51	97,4±0,49	> 0,05
ОТ жіпки чоловіки	87,1±4,5 96,4±4,1	89,5±3,8 94,3±4,3	84,7±4,0 97,2±2,9	86,1±4,4 92,9±4,3	> 0,05
ІМТ (кг/м <sup>2</sup> )	31,35±2,2	32,26±3,7	32,1±3,8	32,6±4,5	> 0,05
САТ (мм рт.ст.)	148,5±7,3	139,3±9,6	150,1±7,5	133,8±8,9	> 0,05
ДАТ (мм рт.ст.)	96,74±5,4	93,43±6,0	97,7±5,4	91,8±6,2	> 0,05
ЛпАТ (ммоль/л)	0,59±0,33*	0,36±0,21*	0,45±0,27*	0,26±0,13*	p < 0,05
АсАТ (ммоль/л)	0,34±0,05*	0,28±0,06*	0,28±0,06*	0,26±0,05*	< 0,05
ГГт (Од/л)	*26,88±0,32	*16,02±0,27	27,4±0,29*	13,3±0,18*	* < 0,001 < 0,0001*
Глюкоза натще (ммоль/л)	*6,68±0,40	*5,65±0,22	6,82±0,38*	5,3±0,47*	* < 0,001 < 0,0001*
Рівень ІРІ (мкОд/мл)	21,0±3,07	16,85±4,00	17,95±3,53	13,56±3,25	> 0,05
НОМА-ІР-ІРІ	*5,73±0,61	*4,21±0,65	6,02±0,67*	3,6±0,70*	* < 0,0001 < 0,0001*
НbA <sub>1c</sub> (%)	*7,05±0,09	*6,76±0,08	6,94±0,06*	6,27±0,07*	* < 0,001 < 0,0001*
ЗХС	4,13±0,44	4,65±0,54	4,4±0,83	4,68±0,67	> 0,05
ТГ (ммоль/л)	1,81±0,45	1,85±0,44	1,68±0,31	1,72±0,66	> 0,05
ЛПНЩ (ммоль/л)	2,27±0,44	2,68±0,42	2,55±0,41	2,71±0,39	> 0,05
мЛПНЩ (ммоль/л)	0,14±0,01*	0,10±0,02*	0,13±0,02*	0,08±0,02*	< 0,01
ЛПВЩ (ммоль/л)	1,03±0,12	1,14±0,12	1,06±0,10*	1,17±0,09*	< 0,001* > 0,05
Ступінь виразності НАЖХП-відсутній	37,0*	*52,0	43,5*	*65,7	
-незначний (%)	23,3	15,5	18,5	20,3	< 0,01*
-помірний (%)	29,0	27,2	27,0*	9,5*	* < 0,001
-значний (%)	10,7	5,3	7,5	4,5	< 0,001*

Застосування розіглітазону забезпечує покращення глікемічного профілю - зниження рівня глюкози (6,68±0,30 проти

5,65±0,32 ммоль/л, p<0,01 для Prol2Pro; 6,82±0,30 ммоль/л проти 5,3±0,32ммоль/л, p<0,001 для Prol2Ala/Ala12 Ala), НОМА-ІР-ІРІ (5,73±0,61 проти 3,4,21±0,43, p<0,001 для Prol2Pro; 6,02±0,58 проти 3,6±0,37, p<0,001 для Prol2Ala/Ala12Ala). Відзначається також тенденція до зниження рівня ІРІ, що свідчить про підвищення чутливості до інсуліну особливо серед осіб з генотипом Prol2Ala/Ala12Ala (табл.1). Більш значне зниження НbA<sub>1c</sub> відзначено у носіїв алелі Ala12 у порівнянні з Prol2: (6,94±0,06) % проти (6,27±0,07) %, p<0,0001 та (7,05±0,09) % проти (6,76±0,08) %, p<0,001.

Більш значне підвищення рівня ХСЛПВЩ (Prol2Pro: 1,03±0,12 ммоль/л проти 1,14±0,12 ммоль/л, p>0,05; Prol2Ala/Ala12Ala: (1,06±0,010 ммоль/л проти 1,17±0,09 ммоль/л, p < 0,001). У 86,7% носіїв алелі Ala12 гена PPARG у відповідь на розіглітазон встановлено більш ніж 5 % зниження НbA<sub>1c</sub> і понад 20% зниження рівня глюкози натще. В той час як тільки 43,72% носіїв алелі Prol2Pro відповідали в достатній мірі на застосування розіглітазону (рис.2).



**Рисунок 2.** Ефективність терапії розіглітазоном (4 мг/добу з подальшим підвищенням дози до 8 мг/добу) тривалістю 24 тижня в зниженні рівня глюкози та НbA<sub>1c</sub> серед осіб з різним генотипом (достатній клінічний ефект: більш ніж 5 % зниження НbA<sub>1c</sub> та понад 20% зниження рівня глюкози натще).

Не зважаючи на те, що розіглітазон підвищує рівень ХСЛПНЩ, але це підвищення відбувається за рахунок ХС

великих за розміром часток ЛПНЩ, а не за рахунок маленьких щільних, які відрізняються атерогенними властивостями, в той час як рівень мщЛПНЩ знижувався в обох групах (Pro12Pro -  $0,14 \pm 0,01$  ммоль/л проти  $0,10 \pm 0,02$  ммоль/л; Pro12Ala/Ala12Ala -  $0,13 \pm 0,02$  ммоль/л проти  $0,08 \pm 0,02$  ммоль/л,  $p < 0,01$ ). Попередніми дослідженнями було доведено, що розмір часток ЛПНЩ корелює з загальною чутливістю до інсуліну та інтенсивністю захвату глюкози тканинами [10, 12].

Таким чином, розіглітазон впливає на фракції ЛПНЩ і збільшує кількість ліпопротеїнових часток з кращою функціональною спроможністю відносно функції транспорту ХС. Паралельно зі змінами профілю та функціональної спроможності ЛПНЩ (збільшення розміру часток за рахунок вмісту ХС), розіглітазон суттєво покращував глікемічний контроль.

За даними попередніх досліджень розіглітазон здійснює мінімальний ефект на зниження рівня ТГ сироватки крові, результати інших досліджень свідчать про незначне підвищення цього показника [8, 16]. В наших дослідженнях розіглітазон знижує вміст жиру в печінці, але при цьому вміст ТГ в сироватці крові майже не змінювався (Pro12Pro:  $1,81 \pm 0,45$  ммоль/л проти  $1,85 \pm 0,44$  ммоль/л,  $p > 0,05$ ; Pro12Ala/Ala12Ala:  $1,68 \pm 0,41$  ммоль/л проти  $1,72 \pm 0,66$  ммоль/л,  $p > 0,05$ ).

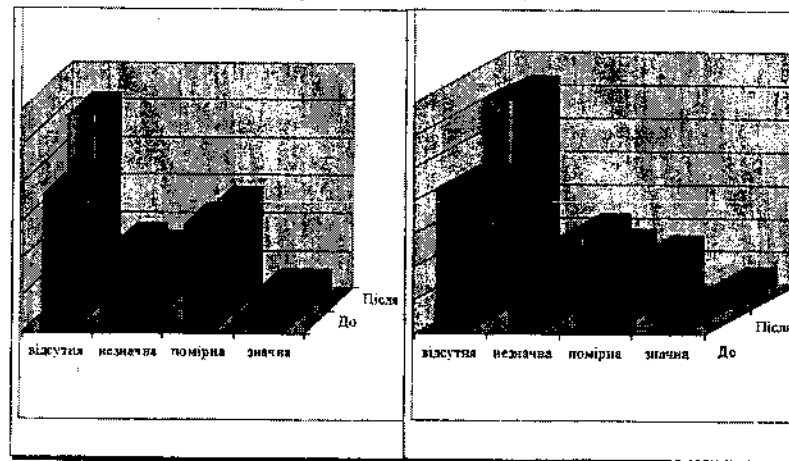
PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala підвищує чутливість до інсуліну, що підтверджується дослідженнями, які оцінювали рівень інсуліну сироватки крові і НОМА-IR в популяціях [11, 13, 20, 22, 28].

Мета-аналіз результатів 57 досліджень підтвердив, що у осіб з ожирінням і генотипом Ala12Ala відзначений нижчий рівень інсуліну натще, суттєво вищий рівень глюкози натще і ступінь IP в порівнянні з генотипом Pro12Pro [28]. Отримані результати свідчать про корисний ефект варіанту Ala12 на чутливість до інсуліну. Механізм за допомогою якого алельний поліморфізм впливає на гомеостаз ліпідів і глюкози остаточно не визначений.

За даними попередніх досліджень біля 50% кліренса інсуліну здійснюється печінкою. Акумуляція жиру в печінці сповільнює кліренс інсуліна. Рівень ТГ печінки та кліренс інсуліна корелюють ( $r=0,8-0,9$ ). Підвищений рівень жирних кислот (ЖК) в сиро-

ватці крові також знижує кліренс інсуліна на 40%. Розіглітазон підвищує кліренс інсуліну і знижує рівень жиру печінки [7].

Терапія розіглітазоном тривалістю 24 тижнів веде до значного зниження рівня трансаміназ і підвищення чутливості до інсуліну у осіб з IP та НАЖХП незалежно від поліморфізму гена PPAR $\gamma$ . Окрім цього, за даними УЗД, у значній кількості пацієнтів відбувається зниження ступеня виразності жирової печінки, відзначається також зростання кількості осіб, у яких після фармакотерапії тривалістю 24 тижня ознаки жирової печінки не виявляються УЗД (табл.1). Поліморфізм гена PPAR $\gamma$  впливає на розвиток жирової печінки: серед гомозигот Pro12Pro НАЖХП відзначена у 37 % в той час як в групі осіб з Pro12Ala/Ala12Ala генотипом - 43,5 %. Ступінь зниження вмісту жиру в печінці в певній мірі визначається поліморфізмом гена PPAR $\gamma$  (рис.3А,В). Більш суттєве зниження ступеня стеатозу відбувається у осіб з Pro12Ala/Ala12Ala генотипом.



А

В

Рисунок 3. Ефективність зниження ступеня виразності НАЖХП розіглітазоном серед осіб з генотипом Pro12Pro (А) та Pro12Ala/Ala12Ala (В).

Серед пацієнтів з генотипом Pro12Ala/Ala12Ala кількість осіб у яких після терапії розіглітазоном зникли ознаки жирової

вої печінки перевищує 22 % в той час як при генотипі Pro12Pro різниця становила 15 % в порівнянні з даними, отриманими до проведення фармакотерапії. Різниця між помірним ступенем становила 18 % для групи осіб з генотипом Pro12Ala/Ala12Ala і 8 % - для генотипу Pro12Pro (рис.4).

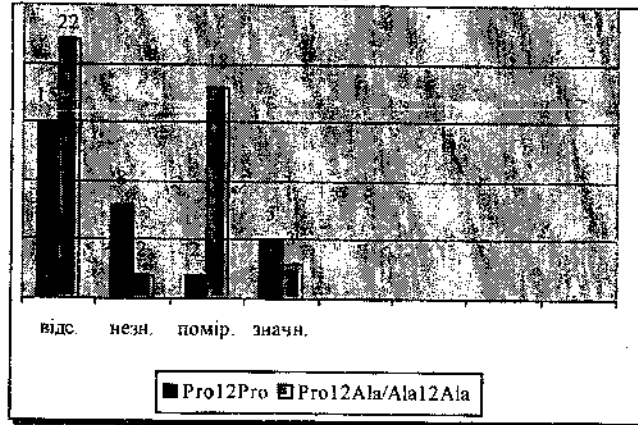


Рисунок 4. Зниження ступеня виразності жирової печінки (відсутня, незначна, помірна, значна) ( $\Delta\%$ ) розіглітазоном серед осіб з різним генотипом.

Відзначається зниження рівня ферментів печінки: АсАт в однаковій мірі між особами з різним генотипом: Pro12Pro  $0,34 \pm 0,05$  проти  $0,28 \pm 0,06$  ммоль/л,  $p < 0,05$  та для Pro12Ala/Ala12Ala  $0,28 \pm 0,06$  проти  $0,23 \pm 0,05$  ммоль/л,  $p < 0,05$ . АлАт у групі Pro12Pro  $0,59 \pm 0,3$  ммоль/л проти  $0,36 \pm 0,21$  ммоль/л,  $p < 0,05$  та для Pro12Ala/Ala12Ala  $0,45 \pm 0,27$  проти  $0,26 \pm 0,13$  ммоль/л,  $p < 0,05$ . ГГлт - на 38,58 % у гомозигот Pro12Pro та на 51,46 у гетерозигот та гомозигот по рестрикційному сайту, що свідчить про суттєве покращення стану печінки та підвищення її антиоксидантної спроможності.

Результати проведених досліджень свідчать про асоціацію між ГГлт та чутливістю до інсуліну у осіб без діабету. Глутатіон є основним внутрішньоклітинним захисником проти вільних радикалів та пероксидів. Підвищення експресії ГГлт може бути протективною відповіддю на персистентний оксидативний стрес.

Отримані данні свідчать, що розіглітазон, за даними УЗД, суттєво знижує вміст жиру в печінці і сироватковий рівень АлАт, ГГлт та АсАт. Зниження жиру печінки залежить від тривалості лікування та поліморфізму гена PPARG. Рівень АлАт знижувався у всіх пацієнтів. Не відзначено випадків гепатотоксичності препарату або підвищення рівня АсАт.

Протективна роль алелі Ala12 в значній мірі пов'язують з рівнем нутриентних ліпідів. Отже вплив поліморфізму Pro12Ala на чутливість до інсуліну може здійснюватись через ЖК їжі та/або фізичну активність. Споживання мононенасичених ЖК зворотно корелює з ІР при поліморфізмі Ala12, особливо серед осіб з патологічним ожирінням. Співвідношення поліненасичених ЖК до насичених ЖК їжі та фізична активність зворотно пов'язані з концентраціями інсуліну натще. Значний ефект співвідношення ЖК їжі на рівень інсуліну натще відзначений для фізично активних, але не для фізично інертних носіїв алелі Ala12 [13, 18, 20, 22, 28].

Таким чином, особи з Pro12Ala/Ala12Ala генотипом краще відповідають на терапію розіглітазоном у порівнянні з Pro12Pro. Серед осіб з Pro12Ala/Ala12Ala генотипом 86,7% в достатній мірі реагують на препарат: у них відбувається зниження рівня HbA<sub>1c</sub> більш як на 5% і понад 20 % зниження глюкози натще. В той час як тільки у 43,72% носіїв алелі Pro12 в достатній мірі відповідають на застосування розіглітазона.

Перспективи дослідження: отримані данні свідчать, що розіглітазон, за даними УЗД, суттєво знижує вміст жиру в печінці, сироватковий рівень АлАт та ГГлт. Зниження жиру печінки залежить від тривалості лікування, дози препарату. Рівень АлАт знижувався у всіх пацієнтів. Підвищення ваги було основним побічним ефектом терапії. Не відзначено випадків гепатотоксичності препарату або підвищення рівня АсАт. Отримані дані на підставі визначення поліморфізму Pro12Ala гена PPARG дозволяють прогнозувати ефективність застосування розіглітазону у осіб з ІР та ГХ II стадії, 1-2 ступеня. Розіглітазон у два рази більш ефективний в корекції ІР у осіб з Ala12 в порівнянні з Pro12Pro. Для підвищення ефективності терапії у осіб з генотипом Pro12Pro потрібне проведення подальших досліджень.

1. Andre P. Hepatic markers and development of type 2 diabetes in middle aged men and women: a three-year follow-up study: the D.E.S.I.R. Study (Data from an epidemiological study on the insulin resistance syndrome) / P. Andre, B. Balkau, C. Born / *Diabetes Metab.* - 2005. - Vol. 31. - P. 542-550.
2. Bloomgarden Z.T. Second World Congress on the Insulin Resistance Syndrome: insulin resistance syndrome and nonalcoholic fatty liver disease / Z.T. Bloomgarden // *Diabetes Care.* - 2005. - Vol. 28. - P.1518-1523.
3. Bonora E. Insulin resistance as estimated by homeostasis model assessment predicts incident symptomatic cardiovascular disease in Caucasian subjects from the general population: the Bruneck study / E. Bonora, S. Kiechl, J. Willeit // *Diabetes Care.* - 2007. - Vol. 30. - P. 318-324.
4. Calnek D.S. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells / D.S. Calnek, L. Mazzella, S. Roser // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* - 2003.- Vol. 23. - P. 52-57.
5. Chang Y. Higher concentrations of alanine aminotransferase within the reference interval predict nonalcoholic fatty liver disease / Y. Chang, S. Ryu, E. Sung, Y. Jang // *Clin. Chem.* - 2007. - Vol. 53. - P. 686-692.
6. Cresci S. PPAR Genomics and Pharmacogenomics: Implications for Cardiovascular Disease / S. Cresci // *PPAR Research.* - 2008. - Vol. 2008. - ID 374549, 11 pages.
7. Duez H. Dissociation between the insulin-sensitizing effect of rosiglitazone and its effect on hepatic and intestinal lipoprotein production / H. Duez, B. Lamarche, K.D. Uffelman // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* - 2008. - Vol. 93, № 5. - P. 1722-1729.
8. Gerstein H.C. Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: a randomised controlled trial / H.C. Gerstein, S. Yusuf, J. Bosch // *Lancet.* - 2006. - Vol. 368. - P. 1096-1105.
9. Hanley A.J. Elevations in markers of liver injury and risk of type 2 diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study

- / A.J. Hanley, K. Williams, A. Festa // *Diabetes.* - 2004. - Vol. 53. - P.2623-2632.
10. Hirano T. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles / T. Hirano, Yasuki Ito, G. Yoshina // *J. Atheros. And Thromb.* - 2004. - Vol. 12, № 2. - P. 67-72.
11. Kang E. S. Effects of Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2 gene on rosiglitazone response in type 2 diabetes / E.S. Kang, S.Y. Park, H.J. Kim // *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* - 2005. - Vol. 78, № 2. - P. 202-208.
12. Lautamki R. The effect of PPAR $\gamma$ -agonist on LDL subclass profile in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease / Lautamki R., P. Nuutila, A. Airaksinen // *Diabetic studies.* - 2006. - P. 31-38.
13. Lindi V. Impact of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma2 gene on serum triacylglycerol response to n-3 FA supplementation / V. Lindi // *Mol. Genet. Metab.* - 2003. - Vol. 79. - P. 52-60.
14. Machado M. Non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance / M. Machado, H. Cortez-Pinto // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* - 2005. - Vol. 17. - P. 823-826.
15. Musso G. Should nonalcoholic fatty liver disease be included in the definition of metabolic syndrome? A cross-sectional comparison with Adult Treatment Panel III criteria in nonobese nondiabetic subjects / G. Musso, R. Gambino, S. Bo // *Diabetes Care.* - 2008. - Vol. 31. - P. 562-568.
16. Nagashima K. Effects of the PPAR $\gamma$  agonist pioglitazone on lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus / K. Nagashima, C. Lopez, D. Donovan // *The J. of Clinical Investigation.* - 2005. - Vol. 115, № 5. - P. 1323-1332.
17. Nannipieri M. Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes: the Mexico City Diabetes Study / M. Nannipieri, C. Gonzales, S. Baldi // *Diabetes Care.* - 2005. - Vol. 28. - P. 1757-1762.
18. Nicklas B.J. Genetic variation in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene (Pro12Ala) affects

metabolic responses to weight loss and subsequent weight regain / B.J.Nicklas // *Diabetes*. - 2001. - Vol. 50. - P. 2172-2176.

19.Olufadi R. Clinical and laboratory diagnosis of the metabolic syndrome / R. Olufadi, C. Byrne // *J. Clin. Pathol*. - 2008. - Vol. 61, № 6. - P. 697-706.

20.Robitaille C. The PPAR-gamma P12A polymorphism modulates the relationship between dietary fat intake and components of the metabolic syndrome: results from the Quebec Family Study / J. Robitaille, J.P. Despres // *Clin.Genet*. - 2003. - Vol. 63. - P. 109-116.

21. Yang W.S. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians / W.S. Yang // *Obes. Res*. - 2002. - Vol. 10. - P. 1104-1110.

22.Ruiz-Narvaez E.A. Ala12 variant of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  gene (PPARG) is associated with higher polyunsaturated fat in adipose tissue and attenuates the protective effect of polyunsaturated fat intake on the risk of myocardial infarction / E.A. Ruiz-Narvaez, P. Kraft, H.Campos // *Am. J.Clinical Nutrition*. - 2007. - Vol. 86, № 4. - P. 1238-1242.

23.Sato K.K. Liver enzymes compared with alcohol consumption in predicting the risk of type 2 diabetes: The Kansai Healthcare Study / K.K. Sato, T. Hayashi, Y. Nakamura // *Diabetes Care*. - 2008. - Vol. 131. - №6. - P.1230-1236.

24.Saely C.H. The metabolic syndrome, insulin resistance, and cardiovascular risk in diabetic and nondiabetic patients / C.H. Saely, S. Aczel, T. Marte // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. - 2005. - Vol. 90. - P. 698-703.

25.Sattar N. Elevated alanine aminotransferase predicts new-onset type 2 diabetes independently of classical risk factors, metabolic syndrome, and C-reactive protein in the West of Scotland Coronary Prevention Study / N.Sattar, O.Scherbakova, I.Ford // *Diabetes*. - 2004. - Vol. 53. - P. 2855-2860.

26.Schindhelm R.K. Alanine aminotransferase predicts coronary heart disease events: a 10-year follow-up of the Hoorn Study / R.K. Schindhelm, J.M. Dekker, G. Nijpels // *Atherosclerosis*. - 2007. - Vol. 191. - P. 391-396.

27.Targher G. Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients / G. Targher, L. Bertolini, F. Poli // *Diabetes*. - 2005. - Vol. 54. - P. 3541-3546.

28.Tonjes A. Association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  with pre-diabetic phenotypes: metaanalysis of 57 studies on nondiabetic individuals / A. Tonjes, M. Scholz, M. Loeffler, M. Stumvoll // *DiabetesCare*. - 2006. - Vol. 29, № 11. - P. 2489-2497.

29.Trujillo M.E. Adiponectin: journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome / M.E. Trujillo, P.E. Scherer // *J. Intern. Med*. - 2005. - Vol. 257. - P. 167-175.

30.Utzschneider K.M. Review: The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease / K.M. Utzschneider, S.E. Kahn // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. - 2006. - Vol. 91. - P. 4753-4761.

31.Wallace T.M. Relationship of liver enzymes to insulin sensitivity and intra-abdominal fat / T.M. Wallace, K.M. Utzschneider, G. Tong // *Diabetes care*. - 2007. - Vol. 1, № 30. - P. 2673-2678.

32.Xiaokun D. The roles of leptin and adiponectin a novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology / D. Xiaokun, K.S.Neeraj, L. Songbai // *Am. J. Pathol*. - 2005. - Vol. 166, № 6. - P. 1655-1679.

#### Резюме

**Степанова Е.В.** Ефективність розиглітазону в корекції інсулінорезистентності в залежності від Pro12Ala поліморфізму гена PPARG.

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) тісно пов'язана з інсулінорезистентністю (ІР), дисліпідемією, ожирінням і є серцево-судинним чинником ризику. Після 6 місяців терапії розиглітазоном у осіб з ІР була відмічена його ефективність в зниженні рівня HbA<sub>1c</sub>, корекції рівня ліпідів плазми крові і ферментів печінки. Експериментальними дослідженнями було доведено, що варіант Pro12 гена PPARG, в порівнянні з варіантом Ala12, має нижчу афінність до PPAR-відповідального елемента і пониженою активність PPARG-у відповідь на ліганди. Досліджувався зв'язок поліморфізму Pro12Ala гену PPARG з метаболічними особливостями і ризиком/розвитком діабету. При порівнянні



носіїв Ala12 варіанту гена PPARG з гомозиготами Pro12 було продемонстровано, що зв'язок алеля Ala12 з підвищенням глікемічного контролю був більш вираженим.

**Ключові слова:** інсулінорезистентність, неалкогольна жирова хвороба печінки, ферменти печінки, ліпіди, розиглітазон, поліморфізм гена PPARG.

#### Резюме

**Степанова Е.В.** *Эффективность розиглитазона в коррекции инсулинорезистентности в зависимости от Pro12Ala полиморфизма гена PPARG.*

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) тесно связана с инсулинорезистентностью (ИР), дислипидемией, ожирением и является сердечнососудистым фактором риска. После 6 месяцев терапии розиглитазоном у лиц с ИР была отмечена его эффективность в снижении уровня HbA1c, коррекции уровня липидов плазмы крови и ферментов печени. Экспериментальными исследованиями было доказано, что вариант Pro12 гена PPARG, по сравнению с вариантом Ala12, имеет более низкую аффинность к PPAR-ответственному элементу и сниженную активность PPARγ в ответ на лиганды. Исследовалась связь полиморфизма Pro12Ala гена PPARG с метаболическими особенностями и риском/развитием диабета. Сравнением носителей Ala12 варианта гена PPARG с гомозиготами Pro12 было продемонстрировано, что связь алеля Ala12 с повышением гликемического контроля была более выраженной.

**Ключевые слова:** инсулинорезистентность, неалкогольная жировая болезнь печени, ферменты печени, липиды, розиглитазон, полиморфизм гена PPARG.

#### Summary

**Stepanova H.V.** *Rosiglitazone effect in correction insulin resistens on depend of pparg gene Pro12Ala polymorphism.*

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is strongly associated with IR, dyslipidemia, obesity and are risk factors for the development cardiovascular disease. After 6 months' treatment rosiglitazone is as effective in lowering HbA1c, correction of lipid levels on plasma blood and of liver enzymes in people with insulin resistence. In experiments have demonstrated that, compared to the PPARG Pro12 variant, the Ala12 variant has lower binding affinity for a PPAR responsive element and decreased PPARγ-activation in response to ligands. The association of the PPARG Pro12Ala polymorphism with metabolic traits and the risk/development of DM has been investigated. When PPARG Ala12 allele carriers were compared to PPARG Pro12 homozygotes, the association of the Ala12 allele with glycemic control was more evident.

**Key words:** insulin resistens, non-alcoholic fatty liver disease, liver enzymes, rosiglitazon, PPARG polymorphism.

**Рецензент:** д.біол.н., проф.Б.П.Романюк

УДК 616.34-002-02+616.34:611.13/14

### ЕКСПРЕСІЯ РЕЦЕПТОРІВ ДО ФАКТОРУ РОСТУ КРОВОНОСНИХ СУДИН VEGFR-1 ТА VEGFR-2 ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ КИШЕЧНИКА

Г.М. Толстанова

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

#### Вступ

Запальні захворювання кишечника (ЗЗК), до яких належать хвороба Крона та виразковий коліт, характеризуються хронічним запаленням стінки кишечника невизначеної етіології [1]. За даними сучасної літератури ангиогенез (утворення нових кровеносних судин) є новим критичним компонентом патогенезу ЗЗК [13]. Фактор росту кровеносних судин (VEGF), а саме його ізоформа VEGF-A, є фундаментальним регулятором ангиогенезу, так як втрата єдиного алелю його гену призводить до дефектної васкуляризації та ранньої ембріональної смерті [7]. VEGF бере участь у проліферації та міграції ендотеліальних клітин [6]. З іншого боку, VEGF має про-запальні властивості за рахунок збільшення проникності кровеносних судин [4] та підвищення експресії білків адгезії лейкоцитів [14].

Ми та інші показали підвищення експресії VEGF-A протеїну та мРНК при гострій та хронічній стадіях експериментального ЗЗК та у хворих на дану патологію [3, 8, 13]. Більш того, нейтралізація його активності сприяла швидкому загоєнню уражень при експериментальному виразковому коліті [11], що свідчить про його патологічну роль в механізмах ЗЗК.

Основними рецепторами, що опосередковують біологічні функції VEGF-A є VEGFR-1 та VEGFR-2 [9]. Не дивлячись на чисельні клінічні та експериментальні дані про підвищення рівня VEGF, дані, щодо динаміки змін експресії VEGFR-1 та VEGFR-2 за різних стадій ЗЗК обмежені.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана за рахунок гранту президента