

**ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ –11391 G > A ГЕНА
АДИПОНЕКТИНУ (ADIPOQ) У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ,
УСКЛАДНЕНИЙ НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ¹**

Тижненко Т. В.¹, Атраментова Л. О.¹, Караченцев Ю. І.^{1,2}, Кравчун Н. О.¹, Полторац В. В.¹,
Горшунська М. Ю.², Йенсен Е.³, Лещенко Ж. А.¹, Гладких О. І.¹, Красова Н. С.¹,
Почерняев А. К.,¹ Опалейко Ю. А.¹, Плохотніченко О. О.¹, Земляніцина О. В.¹,
Черняєва А. О.¹, Чернявська І. В.¹

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

² Харківська медична академія післядипломної освіти;

³ Національний інститут охорони здоров'я та довкілля, м. Білтховен, Нідерланди
tyzhnenko@ukr.net

Натепер жирова тканина розглядається в якості важливого ендокринного органу, що регулює метаболізм, а також запальні та імунні реакції [1]. Ці ефекти опосередковуються рядом молекул (адипокінами), які секретиуються адипоцитами і діють аутокринним, паракринним або ендокринним шляхами, адаптуючи у такий спосіб метаболічні потоки до кількості накопиченої енергії [1, 2]. Особливу увагу серед цих молекул привертає адипонектин у зв'язку з його доведеними антиатерогенними, інсулінсенсаїзерними та антизапальними властивостями [3]. Сформовано думку, що адипонектин діє як головна функціональна сполучна ланка між ожирінням, цукровим діабетом (ЦД) 2 типу та ішемічною хворобою серця (ІХС) [4]. Гормон адипонектин кодується геном *ADIPOQ*, локалізованим на довгому плечі третьої хромосоми в локусі 3q27, який охоплює 16 кілобаз і вміщує три екзони та два інтрони [5]. Натепер ідентифіковано в цілому 149 одиночних нуклеотидних полі-

морфізмів (*single nucleotide polymorphisms — SNPs*) гена *ADIPOQ* [6]. Сильний зв'язок різних однонуклеотидних поліморфізмів гена адипонектину із резистентністю до інсуліну та ЦД 2 типу дозволив сформулювати думку щодо *ADIPOQ* як гена-кандидата для ЦД 2 типу, метаболічного синдрому та споріднених захворювань [5, 7, 8].

Одним з проявів метаболічного синдрому є неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), тісно пов'язана з вісцеральним ожирінням та резистентністю до інсуліну, які являють собою ранню та потужну детермінанту розвитку ЦД 2 типу. Тому пошук їх маркерів та кандидатних генів — актуальне завдання медичної генетики.

Хоча патогенез НАЖХП з'ясований не повністю, складна взаємодія з окремими адипокінами, зокрема адипонектином, очевидно, відіграє важливу роль у розвитку НАЖХП. Так, відомо, що адипонектин зменшує жирові відкладення в печінці та покращує її функції [9], але дотепер відсу-

¹Роботу виконано в межах договору про сумісну наукову діяльність між ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» та Національним інститутом охорони здоров'я та довкілля (м. Білтховен, Нідерланди) (узгодження б/н RIVM від 18.10.2008 р.) «Адипоцитокіни та патерн чутливості до інсуліну у хворих на цукровий діабет 2 типу, що лікувалися n-3 поліненасиченими жирними кислотами», а також в межах фундаментальної НДР ДУ «Інститут проблем ендокринної патології НАМН України» «Розробка патогенетично обґрунтованих алгоритмів діагностики та лікування неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих на цукровий діабет 2 типу» (№ держреєстрації 0111U000174).

Установою, що фінансує дослідження, є НАМН України.

Автори гарантують колективну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості.

тня вичерпна інформація щодо генетичної детермінації накопичення жиру як в організмі в цілому, так і в печінці людини. Вважається, що поліморфізм генів у пацієнтів з НАЖХП асоційований з великою кількістю субстанцій, які беруть участь у метаболізмі жирів і вуглеводів у печінці [10, 11]. Для розуміння природи зв'язку між геномом і метаболічним станом організму досліджують також і SNPs гена адипонектину (*ADIPOQ*). В той же час слід відзначити, що у ряді наукових робіт, присвячених вивченню зв'язку ЦД 2 типу та SNPs гена адипонектину, отримані неоднозначні результати. Встановлено, що поліморфізми в промоторній зоні *ADIPOQ*, в тому числі $-11426A > G$, $-1377C > G$ і $-11391G > A$, пов'язані з циркулюючими рівнями адипонектину при діабеті та ожирінні. Для гаплотипу, який включає тільки мінорні алелі всіх трьох промоторних поліморфізмів гена адипонектину, показано повну втрату промоторної активності [12]. Враховуючи той факт, що знижена активність і низькі циркулюючі рівні адипонектину асоційовані з підвищеним ризиком розвитку важких захворювань, таких як ЦД 2 типу та ІХС [3, 13], можна припустити, що мінорний гаплотип за промоторними поліморфізмами впливає на експресію адипонектину *in vivo* до такої міри, що може бути несприятливим [12]. Показано, що SNPs у промоторній зоні та інtronі 2 *ADIPOQ* відіграють функціональну роль з регулювання адипонектину [14]. Генетичні варіації в $-11391G > A$ *ADIPOQ*

були пов'язані з плазмовими рівнями адипонектину, ожирінням і резистентністю до інсуліну; також було виявлено асоціацію між $-11391G > A$ та інсулінорезистентністю (ІР) й індексом маси тіла (ІМТ); припускають, що вплив цього варіанта поліморфізму *ADIPOQ* на гомеостаз глюкози може залежати від наявності жирових відкладень на тілі [15]. З'ясовано, що SNP $-11391G > A$, $11426A > G$ і $-11377C > G$ в промоторній області *ADIPOQ* тісно пов'язані з ЦД 2 типу серед французів та шведів [16]. При вивченні впливу поліморфізмів $-11391G > A$ та $-11377C > G$ *ADIPOQ* на антропометричні показники не було знайдено асоціацій окремо, проте гаплотип був асоційований з показником співвідношення обводу талії та обводу стегон (ОТ/ОС). За наявності генотипу $-11391A$ і $-11377C$ показник ОТ/ОС був значуще вищим порівняно з іншими гаплотипами. Також носії гаплотипу *AC/AC* мали більш високий рівень адипонектину, ніж носії гаплотипу *GG/GG* ($p < 0,001$) [17].

Метою нашого дослідження було оцінити частоту алелей гена *ADIPOQ* ($-11391G > A$) в харківській популяції і можливість подальшого використання його в якості прогностичного маркера ризику розвитку цукрового діабету 2 типу за наявності неалкогольної жирової хвороби печінки, а також виявити фенотипові та метаболічні особливості пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки в залежності від даного поліморфізму.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежений загаль складали 51 практично здорова особа та хворі на ЦД 2 типу віком від 28 до 80 років (середній вік $54,55 \pm 0,73$ років). Серед них — 150 осіб з ЦД 2 типу за наявності НАЖХП та 73 хворих на ЦД 2 типу без НАЖХП з тривалим перебігом захворювання ($6,66 \pm 0,49$ років).

Дослідження виконано з дотриманням етичних норм і принципів Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи щодо захисту прав людини, Міжнародного кодексу медичної етики.

В нашому дослідженні діагноз НАЖХП

верифікували згідно з рекомендаціями Американської гастроентерологічної асоціації (AGA) та Американської асоціації з вивчення захворювань печінки (AASLD) на підставі клінічного перебігу захворювання, показників ліпідного та вуглеводного обмінів, активності аланінамінотрансферази (АЛТ), аспаратамінотрансферази (АСТ), співвідношення АСТ/АЛТ та ехографічного обстеження [18].

ДНК виділяли з лейкоцитів за допомогою ChelexR100 [19]. Однонуклеотидну заміну, локалізовану в промоторній зо-

ні гена адипонектину (*SNP -11391G > A*, rs17300539), визначили шляхом ампліфікації в полімеразній ланцюговій реакції. Були використані прямий (gttggctgctggcatcctaag) і зворотний (gcctggagaactggaagctg) праймери та ендонуклеаза *MspI* (*HpaII*). Як маркер молекулярної маси було використано ДНК *pUC19*, гідролізовану ендонуклеазою *MspI* [20].

Рівні загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїнів дуже низької щільності — (ЛПДНЩ), тригліцеридів (ТГ) визначали ферментативним методом за допомогою наборів «Новохол» (Росія). Вільні жирні кислоти (ВЖК) вимірювалися використанням набору Wako Diagnostics (Richmond, США). Відповідно до інструкцій виробника використанням імуноферментних наборів було визначено адипонектин (Biovendor, Чеська Республіка) та інсулін (DRG, Німеччина). Інсулінорезистентність характеризували за індексом НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance) [21],

який ґрунтується на одночасному визначенні індивідуальних рівнів інсуліну і глюкози в сироватці крові натще. Чутливість до інсуліну визначали за QUICKI (Quantitative Insulin Check Index) [22].

Статистичний аналіз отриманих даних проведено за допомогою параметричних та непараметричних методів. Нормальність розподілу кількісних змінних визначали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосували *t* критерій Стьюдента; для порівняння змінних із розподілом, відмінним від нормального застосовували критерій U-Манна-Уїтні. Дані представлено як $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ (середнє арифметичне та його статистична похибка). Статистичну гіпотезу про рівність частот алелей та генотипів в основній та контрольній групах перевіряли за допомогою критерію χ^2 на рівні значущості не менше 0,05. Для оцінки ризику розвитку ЦД 2 типу та НАЖХП підраховували показник співвідношення шансів (Odds Ratio) — *OR* [23].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Обстежений загаль (окрім контрольних осіб) склали виключно хворі на ЦД 2 типу з інсулінорезистентним фенотипом (ІМТ $32,20 \pm 0,43$ кг/м², НОМА-IR $7,91 \pm 0,53$ ум.од., QUICKI $0,47 \pm 0,01$ ум.од., $p < 0,001$ відносно контролю), з різним ступенем глікемічного контролю (HbA_{1c} $7,26 \pm 0,11$ %, $p < 0,001$) та порушенням печінкового гомеостазу за відсутності ниркової недостатності.

Хворі на ЦД 2 типу були розподілені на групи для подальшого визначення ступеня гормонально-метаболічних порушень залежно від стану печінки (наявність або відсутність НАЖХП).

У обстежених пацієнтів з ЦД 2 типу у порівнянні до контрольної групи, репрезентативної за статтю та віком, відзначалися статистично значущі ($p < 0,05$) порушення ліпідного обміну (підвищення загального холестерину, ТГ, ЛПДНЩ), вуглеводного обміну (підвищення глюкози натще, рівня HbA_{1c}) та ІР (істотне підвищення інсулінемії натще, НОМА-IR-індексу). У той

же час хворі на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП мали більший ($p < 0,05$) ІМТ, ніж хворі на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП. За локалізацією в усіх обстежених хворих на ЦД 2 типу, ускладнений НАЖХП, ожиріння було абдомінальним, бо співвідношення ОТ/ОС для цих пацієнтів склало $1,00 \pm 0,01$. Окрім того, цей показник був значно вищим за наявності НАЖХП ($p < 0,01$), ніж серед хворих на ЦД 2 типу без ускладнення. Це супроводжувалося також більшими індексами НОМА-IR ($9,95 \pm 0,76$ проти $7,89 \pm 0,50$, $p < 0,05$) та більш високими рівнями метаболічних показників ІР. Зокрема, у хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП встановлено більш виражену дисліпідемію із значущим підвищенням ТГ ($3,53 \pm 0,21$ проти $2,49 \pm 0,15$ ммоль/л, $p < 0,05$) та ХС ЛПНЩ ($3,76 \pm 0,01$ проти $3,52 \pm 0,08$ ммоль/л, $p < 0,05$) у циркуляції порівняно до групи хворих на ЦД 2 типу, неускладнений НАЖХП. Проте рівень адипонектину — гормону адипоцитів, якому притаманні метаболічний, інсуліноміме-

тичний та антиатерогенний ефекти, був подібною мірою знижений у всіх хворих на ЦД 2 типу за відсутності модулюючого впливу НАЖХП (відповідно, $4,75 \pm 0,35$ мг/л за наявності НАЖХП та $5,69 \pm 0,40$ мг/л у хворих без НАЖХП проти $11,75 \pm 1,33$ мг/л у контрольних осіб; $p < 0,001$). Подібний ступінь гіпоадипонектинемії у досліджених груп хворих на ЦД 2 типу, скоріше за все, пов'язаний з тим фактом, що адипонектин синтезується виключно у молодих адипоцитах, і саме тому надфізіологічна гіперінсулінемія, а не патологія печінки, яка виникає пізніше, має вирішальне значення для гальмування синтезу та секреції адипонектину.

Було проведено генотипування дослідженого загалу. У здорових індивідів частоти генотипів за поліморфізмом $-11391G > A$ гена *ADIPOQ* розподілилися таким чином: 43 особи були гомозиготами *GG*, одна особа — гомозиготою *AA*, сім осіб мали гетерозиготний генотип *AG*. Також було розраховано частоти алелей, котрі становлять $p_G = 0,911$, $p_A = 0,089$. Генотипи 223 хворих на ЦД 2 типу за поліморфізмом $-11391G > A$ гена *ADIPOQ* наступні: 3AA: 60AG: 160GG. Частоти алелей становлять $p_G = 0,852$, $p_A = 0,147$. Статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами не виявлені. Розподіл генотипів в основній та контрольній групах відповідає співвідношенню Харді-Вайнберга. Розподіл генотипів 150 хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП за поліморфізмом $-11391G > A$ гена *ADIPOQ* виявився таким: 3AA: 39AG: 108GG. Також було розраховано частоти алелей, котрі становлять $p_G = 0,850$, $p_A = 0,150$. Статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами контролю та хворими на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП також не виявлені. У хворих на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП частоти генотипів за поліморфізмом $-11391G > A$ гена *ADIPOQ* такі: 52 особи були гомозиготами *GG*, 21 мали гетерозиготний генотип *AG*, гомозигот *AA* не виявлено. Також не виявлено статистично значущих відмінностей в частоті алелей між групами хворих на ЦД 2 типу за наявності або відсутності НАЖХП ($p_G = 0,856$, $p_A = 0,144$, $p > 0,05$).

Розраховані нами частоти за поліморфіз-

мом $-11391G > A$ гена *ADIPOQ* узгоджуються з даними літератури. Наприклад, серед білого населення США, дослідженого D. Warodomwicit та співавт. [24], частота мінорного алеля *A* склала 0,07, що відповідає отриманим нами результатам. Також наші дані співставні з визначеними у дослідженні Е.А. Аксенової та співавт. [25] частотами реєстрації генотипів за поліморфізмом $-11391G > A$ гена *ADIPOQ* (генотип *AA* зустрічався у 4,8% дівчат з ожирінням, однак не був визначений у жодного хлопчика з ожирінням, а генотип $-11391GG$ мали 93,9% дітей). Отримані Nabila Bouatia-Naji та співавт. результати так само схожі з нашими. Зокрема, в цій роботі показано, що частота мінорного алеля *A* для хворих на ожиріння склала 0,10 [26].

При порівнянні розподілу генотипів за поліморфізмом $11391G > A$ гена *ADIPOQ* було визначено, що серед хворих на ЦД 2 типу без НАЖХП носіїв генотипу *AA* не зустрілося порівняно до практично здорових осіб (1,96%) та хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП (2,35%). Також звертає на себе увагу наступний факт: носіїв алеля *A* (*AA + GA*) в групі хворих за наявності НАЖХП приблизно в 1,74 рази більше (27,33%), а серед хворих без НАЖХП майже вдвічі (29,0%) більше, ніж в контрольній групі (15,7%) (див. табл. 1).

За використання транскрипційних вимірювань *in vitro* було показано, що rs17300539 ($-11391G > A$) може відігравати функціональну роль завдяки збільшеній транскрипційній активності *ADIPOQ*, пов'язаній з *A*-алелем [27]. Цікаво, що, незважаючи на визначені іншими дослідниками більш високі рівні активного високомолекулярного адипонектину в носіїв *A*-алелю, була відсутня асоціація rs17300539 із кардіоваскулярною хворобою [28, 29].

Для оцінки ризику розвитку ЦД 2 типу та НАЖХП ми підраховували показник співвідношення шансів *OR*. Однак статистично не було доведено значущості цього співвідношення ($p > 0,05$). Наші дані показали, що носійство алеля *A* в гомо- або гетерозиготному стані (*AA + GA*) у хворих на ЦД 2 типу збільшує ризик НАЖХП (*OR* = 2,04, 95% ДІ 0,88–4,71), а за відсутності в генотипі

Розподіл генотипів (A-, GG) за поліморфізмом $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ* у практично здорових осіб та хворих на цукровий діабет 2 типу за наявності або відсутності неалкогольної жирової хвороби печінки

Група	Генотип, %		Всього
	AA+GA	GG	
Контроль	15,7	84,3	100,0
Хворі на ЦД 2 типу без НАЖХП	28,77	71,23	100,0
Хворі на ЦД 2 за НАЖХП	27,33	72,67	100,0

цього алеля ризик зменшується ($OR = 0,49$, 95% ДІ 0,21–1,13). У той же час у хворих за відсутності НАЖХП алель *A* збільшує ризик розвитку ЦД 2 типу в два рази ($OR = 2,17$, 95% ДІ 0,87–5,39), а за відсутності в генотипі цього алеля ризик приблизно на чверть зменшується ($OR = 0,46$, 95% ДІ 0,19–1,14) порівняно із середнім значенням для населення в цілому. Незважаючи на те, що статистичну значущість вищевказаних співвідношень шансів не було доведено, отримані нами дані дають можливість припустити, що визначений поліморфізм гена адипонектину більшою мірою пов'язаний з ризиком розвитку ЦД 2 типу, а виникнення або прогресування НАЖХП, в першу чергу, залежить від метаболічного дисбалансу, але не внеску дослідженого поліморфізму.

Біохімічні та гормональні показники у хворих на ЦД 2 типу, котрі були досліджені із стратифікацією відносно генотипів за поліморфізмом $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ*, подані в табл. 2 та 3.

У обстеженого діабетичного загалу спостерігалася деяке (проте статистично незначуще) підвищення рівнів інсуліну за наявності НАЖХП серед носіїв різних генотипів порівняно до групи хворих на ЦД 2 типу, неускладнений НАЖХП. У той же час верифіковано статистично значуще підвищення НОМА-IR ($p < 0,01$) за наявності НАЖХП серед носіїв різних генотипів порівняно до групи хворих на ЦД 2 типу без ускладнення. Також спостерігалася більш виразна гіперліпідемія у хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП, хоча статистично значущої різниці за генотипами в кожній з досліджу-

ваних груп не виявлено. Ймовірно, хворі з НАЖХП, носії *AA*, *AG*-генотипів по поліморфізму $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ*, потребують більш інтенсивної гіполіпідемічної терапії для зменшення стеатоза печінки та поліпшення чутливості до інсуліну.

За даними багатьох проспективних досліджень відомо, що адипонектин має антиатерогенну дію, а зниження його рівня є раннім предиктором стеатозу печінки і дисліпідемії. У дослідженого нами загалу рівень адипонектину був суттєво знижений порівняно до контрольних осіб ($p < 0,001$). Крім того, гомозиготні носії *SNP -11391AA*, хворі на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП, мали більш низькі рівні адипонектину, ніж гомозиготи $-11391 GG$ ($p < 0,02$) та гетерозиготи $-11391 GA$ ($p < 0,1$) (див табл. 3).

Отримані нами результати суперечать більшості досліджень в інших популяціях. У той же час слід відзначити, що обстежених носіїв генотипу *AA* у групі хворих на ЦД 2 типу, ускладнений НАЖХП, було тільки три особи, і це спостереження необхідно перевірити на більшій кількості досліджень вищевказаного поліморфізму. З іншого боку, слід наголосити більш високі рівні інсуліну в циркуляції, підвищення індексу НОМА-IR ($p < 0,02$) та зниження чутливості до інсуліну за QUICKI ($p < 0,01$), виявлені у носіїв генотипу *AA* з низькими рівнями адипонектину (табл. 3.). Крім того, ми виявили асоціації з ознаками ожиріння для пацієнтів з ЦД 2 типу за наявності НАЖХП з урахуванням різних генотипів за поліморфізмом $-11391 G > A$ гена адипонектину. Носії $-11391 AA$ генотипу мали значно менший ІМТ ($p < 0,01$) та ОТ/ОБ ($p < 0,02$) по-

рівняно з *GG* та *AG* індивідами (табл. 3). Додатково, у гомозигот *AA*, відносно гомозигот *GG* та гетерозигот *AG*, відмічено тенденцію до більш виразної дисліпідемії за деякими параметрами ліпідного профілю, а саме — рівнями загального холестерину та ТГ ($p > 0,05$) на тлі більшої гіпоадипонектинемії у гомозиготних носіїв *A* алелю ($p < 0,05$) (див. табл. 3). Також відмічено більш високій рівень ТГ у хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП порівняно до хворих на ЦД 2 типу без ускладнення незалежно від генотипу як для *GG*, так і для гетерозигот *AG* ($p < 0,05$) (див. табл. 2. та 3).

Як відомо, адипонектин також діє на метаболізм жирних кислот в печінці, що має вторинні ефекти на циркулюючі рівні ТГ та ВЖК. Збільшення ВЖК було виявлено у діабетичного загалу, при цьому у но-

сіїв *GG* генотипу, хворих на ЦД 2 типу без НАЖХП, їх рівень був значно вищим, ніж у носіїв *A*-алелю ($p < 0,05$). У той же час у хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП не лише не спостерігалось різниці в рівнях ВЖК між *GG* та *AG* індивідами, але й було виявлено виразне (більш ніж вдвічі) збільшення ВЖК в циркуляції у гомозигот *AA* ($p < 0,001$) (див. табл. 3). Можливо, визначені в нашому дослідженні гіпоадипонектинемія у всіх групах хворих, стратифікованих за генотипом, гіперінсулінемія натще, підвищені рівні ВЖК, індекси НОМА-IR та знижені показники QUICKI додатково наголошують детермінуюче значення гормонально-метаболічного дисбалансу, притаманного ЦД 2 типу, ускладненого НАЖХП, а не генетичного компонента, визначеного за $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ*.

Т а б л и ц я 2

Клінічні та лабораторні характеристики обстежених хворих на цукровий діабет 2 типу без неалкогольної жирової хвороби печінки — носіїв різних генотипів за поліморфізмом $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ*

Досліджуваний показник	Генотип	
	<i>AG</i>	<i>GG</i>
Тривалість діабету, роки	7,32 ± 1,50	6,89 ± 0,68
Вік на час обстеження, роки	52,60 ± 1,79	55,14 ± 1,29
Вік на початку захворювання, роки	45,65 ± 2,19	48,96 ± 1,31
ІМТ, кг/м ²	31,83 ± 1,45	31,20 ± 0,49
ОТ/ОС	0,96 ± 0,04	0,96 ± 0,01
Глікемія натще, ммоль/л	13,68 ± 4,57	8,78 ± 0,39
НbA _{1c} , %	7,37 ± 0,33	7,16 ± 0,21
Інсулін, пмоль/л	153,72 ± 33,36	108,44 ± 9,56
НОМА-IR, ум. од	8,53 ± 1,47	6,21 ± 0,52
QUICKI, ум. од	0,46 ± 0,02	0,49 ± 0,01
НОМА-ВСФ, ум. од	72,00 ± 10,64	125,15 ± 37,73
Загальний холестерин, ммоль/л	4,98 ± 0,28 **	5,81 ± 0,24
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,25 ± 0,07	1,17 ± 0,18
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	3,56 ± 0,16	3,20 ± 0,19
Тригліцериди, ммоль/л	2,16 ± 0,25	2,63 ± 0,31
ВЖК, ммоль/л	1,05 ± 0,11*	1,40 ± 0,10
Адипонектин, мг/л	5,81 ± 0,69	5,66 ± 0,48
АСТ, ммоль/л-год	0,64 ± 0,09	0,67 ± 0,05
АЛТ, ммоль/л-год	1,28 ± 0,23	1,03 ± 0,09

Примітка. ум. од. — умовні одиниці; статистично значущі відмінності *AG* vs *G*: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,02$; ІМТ — індекс маси тіла; ОТ/ОС — співвідношення обводу талії та обводу стегон; ЛПВЩ — ліпопротеїни високої щільності; ЛПНЩ — ліпопротеїни низької щільності; ВЖК — вільні жирні кислоти; АСТ — аспаргатамінотрансфераза; АЛТ — аланінамінотрансфераза.

У зв'язку з цим привертають увагу результати інших дослідників стосовно асоціації визначеного поліморфізму — $11391 G > A$ в промоторній зоні гена *ADIPOQ* з еволюцією інтолерантності до глюкози та його можливою роллю в якості генетичної детермінанти розвитку ЦД 2 типу [30]. Тим не менш, дослідження С. L. Wassel та співавт. для європеїдів, F. Vasseur та співавт. для французів, P. E. Schwarz та співавт. для німецької популяції показують, що гаплотип *GG* (основний алель $-11391G > A$ і мінорний алель $-11377C > G$) пов'язаний з низькою концентрацією адипонектину і підвищеним ризиком розвитку ЦД 2 типу [30–32]. У той же час у роботі P. E. Schwarz та співавт. [33] відмічено, що носійство гаплотипу *SNP -11391A* і *SNP -11377C* серед німецького населення пов'язано зі збільшенням ризику діабету в 1,5 рази.

Більшість досліджень, присвячених аналізу *SNP -11391 G > A*, знайшли збільшення циркулюючих рівнів адипонектину у тих суб'єктів, що несуть *A* алель, а нещодавній мета-аналіз визначив, що *SNP -11391 G > A* пов'язаний з рівнями адипонектину у відповідності з домінуючою моделлю носійства, де *GA* і *AA* генотипи мають більш високі рівні адипонектину порівняно до *GG* носіїв [28].

Незважаючи на поширеність висновків щодо високого адипонектину у носіїв алеля *A*, більшість досліджень не виявили зв'язку з поліпшенням здоров'я у своїх пацієнтів. Тільки в одному дослідженні європеїдно-го населення Італії показано зниження асоційованих з ожирінням факторів ризику (ІМТ, ОТ, ОС) [34]. Інші дослідження дали суперечливі результати. У дослідженні за участю європейських дітей носії алелю *A* мали підвищені рівні адипонектину, схо-

Т а б л и ц я 3

Клінічні та лабораторні характеристики хворих на цукровий діабет 2 типу за неалкогольної жирової хвороби печінки — носіїв різних генотипів за поліморфізмом $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ*

Досліджуваний показник	Генотип		
	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>
Тривалість діабету, роки	11,50 ± 4,50	4,94 ± 0,98	6,55 ± 0,85
Вік на час обстеження, роки	62,00 ± 1,00 ^Δ	55,80 ± 2,24	54,21 ± 1,17*
Вік на початку захворювання, роки	50,50 ± 5,50	50,87 ± 1,91	47,94 ± 1,15
ІМТ, кг/м ²	27,75 ± 0,25 ^Δ	32,91 ± 2,18	33,00 ± 0,64*
ОТ/ОС	0,90 ± 0,01 ^Δ	1,07 ± 0,03 ^{ΨΨ}	0,99 ± 0,01*
Глікемія натще, ммоль/л	13,71 ± 3,29	9,01 ± 0,50	9,32 ± 0,40
НbA _{1c} , %	7,83 ± 1,97	7,20 ± 0,34	7,30 ± 0,16
Інсулін, пмоль/л	232,20 ± 77,40	166,23 ± 34,72	128,86 ± 10,80
НОМА-IR, ум. од	20,31 ± 2,06 ^Δ	10,84 ± 2,32	8,23 ± 0,93*
QUICKI, ум. од	0,38 ± 0,01 ^Δ	0,45 ± 0,02	0,47 ± 0,01*
НОМА-BCF, ум. од	87,69 ± 11,91	94,76 ± 21,49	98,12 ± 10,71
Загальний холестерин, ммоль/л	8,21 ± 2,02	5,90 ± 0,36	6,24 ± 0,17
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,10 ± 0,07	1,16 ± 0,08	1,02 ± 0,04
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	3,70 ± 0,23	3,81 ± 0,42	3,77 ± 0,16
Тригліцериди, ммоль/л	8,53 ± 6,65	3,60 ± 0,60	3,76 ± 0,42
ВЖК, ммоль/л	3,02 ± 0,48 ^Δ	1,25 ± 0,16	1,30 ± 0,08*
Адипонектин, мг/м	2,10 ± 1,10 ^Ψ	4,63 ± 0,69	4,90 ± 0,41 ^{#**}
АСТ, ммоль/л-год	0,66 ± 0,08	0,66 ± 0,08	0,71 ± 0,04
АЛТ, ммоль/л-год	0,97 ± 0,13	0,97 ± 0,13	1,01 ± 0,08

П р и м і т к а. Статистично значущі відмінності: *AA* vs *AG*: ^Δ — $p < 0,01$; ^Ψ — $p < 0,1$; *GG* vs *AA*: * — $p < 0,001$; [#] — $p < 0,02$; *GG* vs *AG*: ** — $p < 0,001$; ^{ΨΨ} — $p < 0,02$; інші — як в табл. 2.

жа ситуація була і у дорослих, проте показано опосередкований зв'язок цього *SNP* з ожирінням, підвищеним рівнем натщесерце інсуліну і НОМА-IR [35]. Крім того, R. Buzzetti та співавт. не вдалося знайти асоціації з НОМА-IR у огрядних італійців, але вони спостерігали, що особи, гомозиготні за *G* алелем в локусі *-11391*, мали нижчі рівні адипонектину порівняно до осіб з генотипами *GA + AA* [36]. Інше дослідження за участю французьких європеїдів з ожирінням ілюструє, що генотип *AA* пов'язаний з більш низьким рівнем адипонектину (що відповідає отриманим нами даним), але так само супроводжується поступовим зниженням чутливості до інсуліну і має більш високий ризик ЦД 2 типу [34]. У дослідженні F. Fumeron та співавт. було також виявлено зв'язок між генотипом *GA* і ризиком гіперглікемії у населення білих французів [37]. Хоча очевидно, що більшість носіїв алелю *A* мали більш високі рівні адипонектину і могли розраховувати на захист від порушення обміну речовин. В деяких популяціях збільшення рівня адипонектину серед *GA* і *AA* носіїв спостерігається занадто рідко, щоб були помітні будь-які метаболічні прерогативи щодо метаболічних порушень та ожиріння [38].

Наявні натепер дані генетичних досліджень щодо поліморфізму гена адипонектину у людини все ще переконливо не засвід-

чують вирішальну роль його точкових мутацій в інсулінорезистентності, але й не виключають можливості, що причинний взаємозв'язок полягає за його межами, а саме — зміни циркуляторних рівнів адипонектину є наслідком інсулінорезистентності / гіперінсулінемії [39].

У зв'язку з вищезазначеним можна припустити, що верифікація характеру та значення інших одиничних нуклеотидних поліморфізмів гена адипонектину, а також характеристика їх асоціацій з рівнем гормону в циркуляції у хворих на ЦД 2 типу за урахуванням НАЖХП дозволять удосконалити прогноз ризиків і сучасний алгоритм превентивної та реабілітаційної терапії. Крім того, перспективним є комплексне дослідження генів, що регулюють процеси окиснення жирних кислот, синтез та секрецію тригліцеридів, а також генів про-/антизапальних цитокінів, оскільки жирова інфільтрація печінки, як і ряд інших хронічних захворювань, є результатом взаємодії конкретного генотипу з факторами навколишнього середовища.

Перспективи подальших досліджень мають базуватися на визначенні ролі інших генів-кандидатів розвитку НАЖХП та їх зв'язку з різними метаболічними параметрами, що дозволить уточнити роль генів у формуванні НАЖХП в українській популяції.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на цукровий діабет 2 типу з надлишковою масою тіла та інсулінорезистентним патерном гормонально-метаболічних порушень діагностовано виразну гіпоадипонектинемію за відсутності модулюючого впливу неалкогольної жирової хвороби печінки.
2. Відповідно отриманим даним щодо генотипування по одонуклеотидному поліморфізму *-11391 G > A* в промоторній зоні гена *ADIPOQ* частоти алелей серед хворих на цукровий діабет
- 2 типу за наявності неалкогольної жирової хвороби печінки не відрізняються від практично здорових осіб.
3. Статистично значущого внеску одонуклеотидного поліморфізму *-11391 G > A* гена *ADIPOQ* до формування схильності розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та детермінуючих ланок інсулінорезистентного фенотипу у діабетичного загалу не визначено.

ЛІТЕРАТУРА
(REFERENCES)

1. Spiegelman BM, Flier JS. *Cell* 2001; 104:531-543.
2. Saltiel AR. *Nat Med* 2001; 7:887-888.
3. Turer AT, Scherer PE. *Diabetologia* 2012; 55(9):2319-2326.
4. Goldstein BJ, Scalia R. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2563-2568.
5. Francke S, Manraj M, Lacquemant C, et al. *Hum Mol Genet* 2001; 10(24):2751-2765.
6. Mtiraoui N, Ezzidi I, Turki A, et al. *Diab Res Clin Pract* 2012; 97(2):290-297.
7. Heid IM, Wagner SA, Gohlke H, et al. *Diabetes* 2006; 55(2):375-384.
8. Gibson F, Froguel P. *Diabetes* 2004; 53:2977-2983.
9. Kosobjan EP, Smirnova OM. *Saharnyj Diabet* 2010; 1:55-64.
10. Stefan N, Schafer S, Machicao F. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:4238-4243.
11. Kotronen A, Yki-Jarvinen H, Aminoff A, et al. *Eur J Endocrinol* 2009; 160:593-602.
12. Laumen H, Saningong AD, Heid IM, et al. *Diabetes* 2009; 58(4):984-991.
13. Rothenbacher D, Brenner H, März W, Koenig W. *Europ Heart J* 2005; 26(16):1640-1646.
14. Harvest FG. *Biomarker Insights* 2009; 4:123-133.
15. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(4):2005-2010.
16. Gu HF, Abulaiti a, Ostenson CG, et al. *Diabetes* 2004; 53(1):31-35.
17. Dolley G, Bertrais S, Frochot V, et al. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32(4):669-675.
18. Chalasani N, Younossi Z, Lavine GE, et al. *Hepatology* 2012; 55(6):2005-2023.
19. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. *BioTechniques* 1991; 10:506-513.
20. Solnceva AV, Aksenova EA, Sukalo AV, et al. *Izv Nac Akad Nauk Belorusi* 2011; 2:29-37.
21. Matthews DR, Hoske JP, Rudenski AS, et al. *Diabetologia* 1985; 28:412-419.
22. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2402-2410.
23. Armitage P, Berry G. *Statistical methods in medical research, Blackwell Scientific Publications, 1994: 620 p.*
24. Warodomwicht D, Shen J, Arnett DK, et al. *Obesity* 2008:510-517.
25. Aksenova EA, Naumovich NI, Solnceva AV, et al. *Genetychna i regeneratyvna medycyna: problemy ta perspektyvy: materialy nauk.-prakt. konf. z mizhnar. Uchastju, Kyi'v, 2010:13.*
26. Bouatia-Naji N, David Meyre L, Stephane Lobbens L, et al. *Diabetes* 2006; 55:545-550.
27. Schraw T, Wang ZV, Halberg N, et al. *Endocrinology* 2008; 149:2270-2282.
28. Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. *Diabetes* 2007; 56(5):1198-1209.
29. Oliveira CS, Saddi-Rosa P, Crispim F, et al. *J Diab Compl* 2012; 26(2):94-98.
30. Schwarz PE, Towers W, Fischer S, et al. *Diabetes Care* 2006; 29:1645-1650.
31. Wassel CL, Pankow, Jacobs DRJr, et al. *Obesity* 2010; 18(12):2333-2338.
32. Vasseur F, Helbecque H, Dina C, et al. *Hum Mol Genet* 2002; 11(21):2607-2614.
33. Schwarz PE, Govindarajulu S, Towers W, et al. *Horm Metab Res* 2006; 38(7):447-451.
34. Menzaghi C, Ercolino T, Salvemini L, et al. *Physiological Genomics* 2005; 19:170-174.
35. Morandi A, Maffei C, Lobbens S, et al. *Obesity* 2010; 18(7):1469-1473.
36. Buzzetti R, Petrone A, Zavarella S, et al. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31:424-428.
37. Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, et al. *Diabetes* 2004; 53(4):1150-1157.
38. Enns JE, Taylor CG, Zahradka P. *J Obes* 2011:17.
39. Cook JR, Semple RK. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:1544-1554.

ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ $-11391 G > A$ ГЕНА АДИПОНЕКТИНУ (*ADIPOQ*) У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ, УСКЛАДНЕНИЙ НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ

Тижненко Т. В.¹, Атраментова Л. О.¹, Караченцев Ю. І.^{1,2}, Кравчун Н. О.¹,
Полторак В. В.¹, Горшунська М. Ю.², Йенсен Е.³, Лещенко Ж. А.¹, Гладких О. І.¹,
Красова Н. С.¹, Почерняев А. К.¹, Опалейко Ю. А.¹, Плохотніченко О. О.¹,
Земляніцина О. В.¹, Черняєва А. О.¹, Чернявська І. В.¹

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

² Харківська медична академія післядипломної освіти;

³ Національний інститут охорони здоров'я та довкілля, м. Білтховен, Нідерланди
tyzhnenko@ukr.net

Досліджено однонуклеотидний поліморфізм в промоторній області $-11391 G > A$ гена адипонектину (*ADIPOQ*) у хворих на цукровий діабет 2 типу ($n = 233$) і здорових мешканців міста Харкова ($n = 51$). Встановлено відсутність значущих відмінностей у частоті алелей за однонуклеотидним поліморфізмом $-11391 G > A$ у хворих на цукровий діабет 2 типу ($p_G = 0,856$, $p_A = 0,144$), пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу за наявності неалкогольної жирової хвороби печінки ($p_G = 0,850$, $p_A = 0,150$) та здорових осіб ($p_G = 0,911$, $p_A = 0,088$). За результатами авторів статті, внесок генетичної компоненти до формування схильності до розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки у діабетичного загалу за однонуклеотидним поліморфізмом $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ* не визначено. Отримані дані обґрунтовують перспективи подальших досліджень, які мають базуватися на визначенні ролі інших генів-кандидатів розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та їх зв'язку з різними метаболічними параметрами, що дозволить уточнити роль генів у формуванні цього захворювання.

К л ю ч о в і с л о в а: цукровий діабет 2 типу, неалкогольна жирова хвороба печінки, ген адипонектину, однонуклеотидний поліморфізм.

ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ $-11391 G > A$ ГЕНА АДИПОНЕКТИНА (*ADIPOQ*) У БОЛЬНИХ САХАРНИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПА, ОСЛОЖНЕНИМ НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Тыжненко Т. В.¹, Атраментова Л. А.¹, Караченцев Ю. И.^{1,2}, Кравчун Н. А.¹,
Полторак В. В.¹, Горшунская М. Ю.², Йенсен Е.³, Лещенко Ж. А.¹, Гладких А. И.¹,
Красова Н. С.¹, Почерняев А. К.¹, Опалейко Ю. А.¹, Плохотниченко О. А.¹,
Земляницина О. В.¹, Черняева А. А.¹, Чернявская И. В.¹

¹ ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков;

² Харьковская медицинская академия последипломного образования;

³ Национальный институт охраны здоровья и окружающей среды, г. Билтховен, Нидерланды
tyzhnenko@ukr.net

Исследован однонуклеотидный полиморфизм в промоторной области $-11391 G > A$ гена адипонектина (*ADIPOQ*) у больных сахарным диабетом 2 типа ($n = 223$) и здоровых жителей города Харькова ($n = 51$). Установлено отсутствие значимых различий в частоте аллелей по однонуклеотидному полиморфизму $-11391 G > A$ у больных сахарным диабетом 2 типа ($p_G = 0,856$, $p_A = 0,144$), пациентов с сахарным диабетом, осложненным неалкогольной жировой болезнью печени ($p_G = 0,850$, $p_A = 0,150$) и здоровых лиц ($p_G = 0,911$, $p_A = 0,088$). По результатам исследования вклад генетической компоненты в формирование склонности к развитию неалкогольной жировой болезни печени у лиц с диабетом по однонуклеотидному полиморфизму $-11391 G > A$ гена *ADIPOQ* не выявлен. Полученные данные обосновывают перспективность дальнейших исследований, которые должны базироваться на изучении роли других генов-кандидатов развития неалкогольной жировой болезни печени и их связи с различными метаболическими параметрами, что позволит уточнить роль генов в формировании заболевания.

К л ю ч е в ы е с л о в а: сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени, ген адипонектина, однонуклеотидный полиморфизм.

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM $-11391 G > A$ OF ADIPONECTIN GENE (*ADIPOQ*) IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

T. V. Tyzhnenko¹, L. O. Atramentova¹, Y. I. Karachentsev^{1,2}, N. O. Kravchun¹,
V. V. Poltorak¹, M. Y. Gorshunskaya², E. Jansen³, Zh. A. Leshchenko¹, O. I. Gladkih¹,
N. S. Krasova¹, A. K. Pochernyayev¹, Y. A. Opaleiko¹, O. O. Plohotnichenko¹,
O. V. Zemlyanitsyna¹, A. O. Cherniaieva¹, I. V. Chernyavskaya¹

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

²Kharkiv Postgraduate Medical Academy;

³National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven
tyzhnenko@ukr.net

It was studied the single nucleotide polymorphism (*SNP*) in the promoter region of $-11391 G > A$ adiponectin gene (*ADIPOQ*) in patients with type 2 diabetes ($n = 223$) and healthy inhabitants of Kharkiv ($n = 51$). It was established the absence of significant differences in allele frequency for *SNP* $-11391 G > A$ in patients with type 2 diabetes ($p_G = 0.856$ $p_A = 0.144$), diabetes mellitus patients complicated with non-alcoholic fatty liver disease ($p_G = 0.850$ $p_A = 0.150$) and healthy individuals ($p_G = 0.911$ $p_A = 0.088$). According to the results of the study the contribution of genetic components in the propensity formation for the development of non-alcoholic fatty liver disease in patients with diabetes in *SNP* $-11391 G > A$ gene *ADIPOQ* was not identified. The data obtained have proved promising of further research, which should be based on a study of the role of other candidate genes in the development of non-alcoholic fatty liver disease and their relationship with various metabolic parameters which may allow clarifying the role of genes in disease formation.

Key words: type 2 diabetes, non-alcoholic fatty liver disease, adiponectin gene, a single nucleotide polymorphism.