

УДК 616.34-002-053.5

Т.О. Крючко, О.А. Пода, О.А. Шликова, О.В. Ізмайлова

Генетичні та імунологічні маркери розвитку жирової дегенерації печінки в дітей та підлітків із метаболічним синдромом

ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, Україна

PERINATOLOGIYA I PEDIATRIYA.2014.4(60):61–66;doi10.15574/PP.2014.60.61

Мета — вивчити поширеність поліморфізму Pro12Ala гена PPAR γ 2 у дітей та підлітків з екзогенно-конституційним ожирінням і неалкогольною жировою хворобою печінки; визначити його асоціації з основними критеріями метаболічного синдрому та рівнем ФНП-а.

Пацієнти та методи. Обстежено 67 дітей віком 7–17 років. До основної групи (n=34) увійшли діти з неалкогольною жировою хворобою печінки, до групи порівняння (n=33) — пацієнти з діагностованим ожирінням без порушень функцій печінки, популяційний контроль склали 46 здорових осіб.

Результати. За результатами молекулярно-генетичного обстеження, мутантний алель 12Ala поліморфного маркера Pro12Ala гена PPAR γ 2 мав достовірно меншу поширеність серед пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки порівняно з групою популяційного контролю, а також тенденцію до нижчих показників порівняно з хворими на екзогенно-конституційне ожиріння. Наявність «мінорного» алеля 12Ala гена PPAR γ 2 у дітей та підлітків з ожирінням асоціювалася з меншим ризиком метаболічних порушень у вигляді інсулінорезистентності та дисліпідемії та достовірно нижчими показниками рівня прозапального цитокіну ФНП-а.

Висновки. Отримані результати дають змогу рекомендувати проведення генетичного скринінгу з визначенням генотипу гена PPAR γ 2 у дітей та підлітків з ожирінням із метою визначення ступеня ризику розвитку метаболічних порушень і своєчасного проведення профілактичних заходів.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, ожиріння, діти, гени, поліморфізм.

Вступ

За даними медичної статистики, рівень захворюваності на хронічну патологію гепатобілярної системи, зокрема, на стеатоз печінки та неалкогольний стеатогепатит як в Україні, так і в інших країнах світу має неухильну тенденцію до зростання [2, 10]. Останніми роками науковці пропонують об'єднати поняття «стеатоз» та «стеатогепатит» і визначити дану нозологію, як «неалкогольну жирову хворобу печінки» (НАЖХП), при цьому «стеатоз», «стеатогепатит», «фіброз» і «цироз» розглядаються, як послідовні стадії даного захворювання [8]. Непокій той факт, що НАЖХП є однією з частих патологій печінки в дітей та підлітків унаслідок стрімкого зростання рівня поширеності ожиріння та асоційованих із ним метаболічних порушень у педіатричній практиці [11]. Подібна негативна динаміка спостерігається і в Україні, де за останні 10 років (2002–2012 рр.) практично вдвічі зросла кількість дітей та підлітків із надмірною масою тіла та ожирінням [5]. За останніми літературними даними, рівень поширеності НАЖХП у дітей та підлітків становить 3–10%, збільшуючись до 53% при наявності супутнього ожиріння [18, 22]. Етіологія НАЖХП до кінця невідома, однак, безсумнівно, мультифакторна. Асоціативний зв'язок НАЖХП з ожирінням, інсулінорезистентністю та дисліпідемією дає підстави розглядати її як печінкову маніфестацію метаболічного синдрому (МС) [4, 9].

Останнє десятиліття характеризується посиленою увагою до визначення молекулярно-генетичних механізмів розвитку мультифакторних патологій, до яких відносяться і МС. На сьогодні багато дослідників активно вивчають функції ядерних транскрипційних факторів — рецепторів, які активують проліферацію пероксисом (PPAR), що прямо модулюють активність генів, відповідальних за стан і функцію жирової тканини, обміну ліпідів, активності клітин запалення та продукцію ними цитокінів і факторів адгезії [1, 20]. Особлива увага до PPAR викликана тим, що сучасні дослідження доводять тісний зв'язок між активністю даних факторів транскрипції та розвитком найпоширеніших захворювань неінфекційної етіології, пов'язаних із МС, — ішемічної хвороби серця,

атеросклерозу, артеріальної гіпертензії та цукрового діабету 2-го типу [6, 14]. На сучасному етапі багато науковців приділяють особливу увагу вивченню значення відмінностей наборів ядерних рецепторів, які експресуються в організмі здорових осіб та пацієнтів з ожирінням і проявами МС. Відомо, що зміна їх активності тісно пов'язана з розвитком метаболічних захворювань печінки [12, 17]. Усі ізоформи PPAR (PPAR α , PPAR β і PPAR γ) представлені в печінці. Основне місце дії PPAR γ — жирова тканина і макрофаги. На сьогодні відомі кілька генетичних варіантів PPAR γ , найбільш вивчений — Pro12Ala поліморфізм (rs1801282), відкритий у 1997 р. Протягом останніх років активно вивчається асоціація Pro12Ala поліморфізму гена PPAR γ 2 з розвитком ожиріння, дисліпідемії, ішемічної хвороби серця, артеріальної гіпертензії, синдрому полікістозних яєчників у жінок — патологічними станами, тісно пов'язаними з розвитком МС у дорослій популяції. Однак виявлення Pro12Ala поліморфізму гена PPAR γ 2 у дітей та підлітків з ожирінням, визначення його асоціативних зв'язків з основними компонентами МС, секрецією прозапальних цитокінів і розвитком НАЖХП у педіатричній практиці мало вивчені. Проведення даних досліджень дасть змогу поглибити знання про патогенетичні механізми розвитку НАЖХП у дітей і підлітків і розробити нові ефективні методи прогнозування розвитку захворювання.

Мета роботи — вивчити рівень поширеності однонуклеотидного поліморфізму Pro12Ala гена PPAR γ 2 у дітей та підлітків з екзогенно-конституційним ожирінням (ЕКО) і НАЖХП, а також визначити його асоціації з основними критеріями МС і рівнем прозапального цитокіну ФНП-а як маркера адипоцитарної дисфункції.

Матеріали та методи дослідження

Наукова робота є частиною планової науково-дослідної роботи Науково-дослідного інституту генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія» «Комплексне дослідження генетично обумовлених особливостей NF-kB опосередкованої сигнальної трансдукції, що визначає розвиток хронічного системного запалення».

ня, у хворих на метаболічний синдром та цукровий діабет 2-го типу» та науково-практичної програми Асоціації педіатрів України «Визначення поширеності артеріальної гіпертензії та метаболічного синдрому серед дітей та підлітків України» (2014 р.). Дослідження проводилося на базі гастроентерологічного відділення Полтавської обласної дитячої клінічної лікарні та ендокринологічного відділення дитячої міської клінічної лікарні м. Полтави. Усього під спостереженням знаходилося 67 дітей віком 7–17 років із діагностованим ожирінням згідно з міжнародними рекомендаціями і діючим протоколом діагностики та лікування ендокринних захворювань у дітей. Діагноз НАЖХП формулювався відповідно до МКХ-10 (K.76.0 – жирова дегенерація печінки). Усі пацієнти розподілилися на три групи. До першої групи (n=34) увійшли діти, в яких на фоні вираженого ожиріння була НАЖХП, до другої групи (n=33) – пацієнти з ЕКО без порушень функцій печінки. Для проведення генетичного скринінгу, в якості контролю, обиралася група практично здорових осіб (n=46). Діагноз НАЖХП верифікувався за допомогою даних УЗД печінки та змін у біохімічному аналізі крові. З метою скринінгу для виключення уражень вірусної та аутоімунної етіології всі пацієнти обстежувалися на HBs-Ag та анти-HCV, визначалися антинуклеарні (ANA) та антимітохондріальні антитіла, а також рівень α -трипсину та церулоплазмину як маркерів обмінних порушень печінки. У всіх дітей проводилося комплексне обстеження, що включало збір анамнестичних даних, антропометрію та загальноклінічні аналізи. Надлишкова маса тіла/ожиріння розраховувалася за відсотком надлишкової маси від потрібної з використанням перцентильних таблиць відповідно до віку і статі. Абдоминально-вісцеральний тип ожиріння визначався за допомогою співвідношення об'єму талії до стегон (От/Ос). Метаболічний синдром в обстежених дітей верифікувався відповідно до узгоджених критеріїв, запропонованих Міжнародною діабетичною федерацією (IDF) у 2007 р. [16]. Для виявлення порушень вуглеводного обміну у всіх пацієнтів визначалася концентрація глюкози крові натще-серце (Глю), концентрація імунореактивного інсуліну (ІРІ) визначалася імунохімічним методом із використанням тест-системи Roche Diagnostics (Швейцарія). Розраховувався індекс НОМА-ІR, який є критерієм інсулінорезистентності, за формулою: $\text{НОМА-ІR} = \text{інсулін (мкОд/мл)} * \text{глюкоза (ммоль/л)} / 22,5$; за нормативні значення приймався показник $\text{НОМА-ІR} < 3,5$.

Показники ліпідного спектру крові – загальний холестерин (ЗХС), тригліцериди (ТГ), холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ), холестерин ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) та холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ)

визначалися ферментативно-колориметричним методом за допомогою тест-систем Roche Diagnostics (Швейцарія).

Геномна ДНК виділялася за допомогою Комплекту для виділення ДНК/РНК із сироватки або плазми крові (ЛитТех, Росія). Ампліфікація поліморфної ділянки ППАР γ 2 гена проводилася на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технологія», м. Москва). Концентрація ФНП- α (пг/мл) визначалася методом імуноферментного аналізу з використанням набору реагентів «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» за стандартною методикою; рівень нормальних значень ФНП- α – до 6 пг/мл.

Математична обробка отриманих даних здійснювалася з використанням програми Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США) та електронних таблиць MS Excel. Отримані у процесі обстеження пацієнтів кількісні показники оброблялися методами математичної статистики з розрахунком середніх значень вибірок (M) і помилок середніх (m) у групах обстежених осіб. Вірогідність відмінностей отриманих результатів для різних груп обстежених дітей визначалася за допомогою t-критерію надійності Стюдента. За допомогою критерію χ^2 перевірявся розподіл генотипів за досліджуваними поліморфними локусами на відповідність рівновазі Харді-Вайнберга. Порівняння частот генотипів між досліджуваними групами проводилося за допомогою точного тесту Фішера. Для порівняння частот алелей використовувався критерій χ^2 Пірсона з поправкою Іейтса на безперервність. Для оцінки достовірності відмінностей між групами використовувався точний двосторонній критерій Фішера для малих груп. Для порівняння частот варіантів у незв'язаних групах вираховувалися відношення шансів (ВШ) із визначенням 95% довірчого інтервалу (ДІ). Для аналізу взаємозв'язків кількісних параметрів, які вивчалися, визначався коефіцієнт кореляції Спірмена. Для усіх видів аналізу статистично значущими вважалися відмінності при $p \leq 0,05$, при $0,05 \leq p \leq 0,1$ відмічалася тенденція до відмінності.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз статевого складу обстежених дітей показав, що переважну більшість пацієнтів із діагностованою НАЖХП становили дівчатка (56,5%), тоді як статевий склад групи дітей з ЕКО мав практично рівномірний розподіл. Середній вік усіх пацієнтів не мав достовірної різниці і становив у середньому $12 \pm 0,28$ року (у діапазоні 7–17 років).

Першим важливим етапом нашого дослідження стало виявлення частоти поширеності основних компонентів МС серед усіх обстежених пацієнтів. Відомо, що основою верифікації МС є наявність ожиріння саме за абдоминально-вісцеральним типом. За отриманими даними, у більшості (62,6%) обстежених дітей та підлітків відмічався абдоминальний тип жиророзподілу, причому з практично

Таблиця 1

Порівняльна характеристика поширеності основних компонентів метаболічного синдрому серед дітей з неалкогольною жировою хворобою печінки та екзогенно-конституційним ожирінням (%)

Компоненти МС	Група спостереження		χ^2 , df=1	p
	діти з НАЖХП (n=38)	діти з ЕКО (n=43)		
	абс. (%)	абс. (%)		
От>90 центиля	31 (91,2)	11 (33,3)	21,5	<0,001
Артеріальна гіпертензія (АТ \geq 95 центилі)	13 (35,3)	9 (24,2)	0,48	0,487
Гіперглікемія (\geq 5,6 ммоль/л)	5 (11,8)	1 (3)	1,55	0,213
Гіпертригліцеридемія (ТГ \geq 1,7 ммоль/л)	11 (32,4)	1 (3)	7,9	0,005
Зниження рівня ЗХС ЛПВЩ (\leq 0,9 ммоль/л)	14 (41,2)	3 (9)	9,51	0,002

Таблиця 2

Розподіл частоти генотипів та алелей поліморфного варіанта Pro12Ala гена PPAR γ 2 в обстежених дітей

Показники	Популяційний контроль (n=46)	Хворі на НАЖХП (n=34)	Хворі на ЕКО (n=33)	χ^2 Пірсона, df=1	p	ВШ (95% ДІ)
Pro/Pro	63,0 (29)	88,2 (30)	69,7 (23)	5,17 [*] 0,14 ^{**} 2,45 ^{***}	0,023 [*] 0,708 ^{**} 0,117 ^{***}	4,40 (1,32–14,64) [*] 1,35 (0,52–3,50) ^{**} 3,26 (0,91–11,73) ^{***}
Носії алелі Ala (генотипи Pro/Ala і Ala/Ala)	37,0 (17)	11,8 (4)	30,3 (10)			
Pro	79,3 (73)	94,1 (64)	80,3 (53)	5,78 [*] 0,00 ^{**} 4,59 ^{***}	0,016 [*] 0,957 ^{**} 0,032 ^{***}	4,16 (1,35–12,88) [*] 1,06 (0,48–2,34) ^{**} 3,92 (1,21–12,75) ^{***}
Ala	20,7 (19)	5,9 (4)	19,7 (13)			

Примітки: * – рівень значущості, отриманий тестом χ^2 при порівнянні груп популяційного контролю і пацієнтів із НАЖХП; ** – рівень значущості, отриманий тестом χ^2 при порівнянні груп популяційного контролю і дітей з ЕКО; *** – рівень значущості, отриманий тестом χ^2 при порівнянні груп пацієнтів із НАЖХП та дітей з ЕКО.

однаковою частотою як серед хлопчиків (32,7%), так і серед дівчаток (29,9%). Аналіз поширеності основних критеріїв метаболічного симптомокомплексу в пацієнтів обох груп показав, що найпоширенішим компонентом була артеріальна гіпертензія, яка відмічалася майже в третині обстежених (29,8%), наступним за частотою критерієм було зниження рівня ЛПВЩ (23,8%), гіпертригліцеридемія зустрічалася у 17,9% хворих, а найменш поширеним за частотою компонентом виявилася гіперглікемія натщесерце (9%).

Проводячи порівняльну характеристику поширеності основних компонентів МС серед дітей та підлітків із НАЖХП та ЕКО (табл. 1), ми виявили вірогідні відмінності лише за частотою підвищення рівня ТГ і зниження вмісту ЗХС ЛПВЩ, що підтвердило наявність виражених проявів дисліпідемії серед хворих із жировою дегенерацією печінки. Слід зазначити, що переважна більшість пацієнтів із НАЖХП (91,2%) мали абдомінально-вісцеральний тип жиророзподілу, який відмічався лише в третині (33,3%) обстежених з ЕКО.

За даними нашого дослідження, досить часто в обстежених дітей обох груп діагностувалася інсулінорезистентність, яка не входить до переліку основних критеріїв МС, але, на думку багатьох дослідників, є патогенетичною основою даного симптомокомплексу в дітей [3, 7]. Підвищення індексу НОМА-IR відмічалася у 84% обстежених дітей з жировою дегенерацією печінки та практично в третині пацієнтів з ЕКО (27,9%). Причому інсулінорезистентність практично з однаковою частотою реєструвала-

ся в хлопчиків і дівчаток обох груп. Отримані дані вказали на досить високий рівень поширеності порушення чутливості клітин організму до дії ендogenous інсуліну серед дітей та підлітків з ожирінням навіть за умови нормальних показників глікемії натщесерце і дали змогу виділити стан інсулінорезистентності як один із вагомих предикторів розвитку НАЖХП у дитячій популяції.

Проведений статистичний аналіз показав, що майже половина (44,4%) пацієнтів із діагностованою НАЖХП мала повний МС із трьох основних компонентів у різній комбінації, на противагу, у групі дітей з діагностованим ожирінням без порушення функції печінки МС виявлявся лише у 25,6%. Отримані дані дали підставу стверджувати, що розвиток жирової дегенерації печінки відбувається на фоні виражених порушень вуглеводного та ліпідного обміну як основних компонентів МС.

Наступним етапом нашої роботи стало генетичне дослідження, яке полягало у визначенні частоти генотипів та алелей поліморфного варіанту Pro12Ala гена PPAR γ 2 в групі популяційного контролю, а також у пацієнтів із діагностованою НАЖХП та ЕКО. При дослідженні поліморфізму Pro12Ala гена PPAR γ 2 у групі популяційного контролю частота «дикого типу» генотипу Pro/Pro становила 63,0%, носії мутантної алелі Ala (гетерозиготний генотип Pro/Ala та гомозиготний мутантний генотип Ala/Ala) – 37,0% (табл. 2). У групі хворих на НАЖХП відповідно: Pro/Pro – 88,2%, носії алелі Ala – 11,8%. У хворих на ожиріння частота генотипу Pro/Pro спостерігалася на рівні 69,7%, тоді як частота носіїв алелі Ala була

Таблиця 3

Аналіз поширеності основних складових метаболічного синдрому в обстежених дітей залежно від генотипу PPAR γ 2

Ознака		I група Pro/Pro (n=53) абс. (%)	II група X/Ala (n=14) абс. (%)	χ^2	p
OT > 90 центиля за статтю та віком	так	41 (77,4) [*]	6 (42,9)	4,76	0,029
	ні	12 (22,6)	8 (57,1)		
AT \geq 95 центиля за статтю та віком	так	21 (39,6)	2 (14,3)	2,13	0,144
	ні	32 (60,4)	12 (85,7)		
Глю \geq 5,6 ммоль/л або цукрового діабету 2-го типу	так	6 (11,3)	-	-	-
	ні	47 (88,7)	14		
ТГ \geq 1,7 ммоль/л	так	14 (26,4) ^{**}	1 (7,1)	17,65	<0,001
	ні	39 (73,6)	13 (92,9)		
ЗХС ЛПВЩ \leq 0,9 ммоль/л	так	13 (24,5)	2 (14,3)	0,67	0,719
	ні	40 (75,5)	12 (85,7)		
IRI ₀ \geq 20 мкОд/мл	так	19 (35,8) [*]	1 (7,1)	4,36	0,048
	ні	34 (64,2)	13 (92,9)		
НОМА _{IR} \geq 3,5 Од	так	33 (62,3) ^{**}	2 (14,3)	10,22	0,002
	ні	20 (37,7)	12 (85,7)		

Примітки: * – рівень значущості, отриманий тестом χ^2 при порівнянні пацієнтів обох груп (p < 0,05); ** – рівень значущості, отриманий тестом χ^2 при порівнянні пацієнтів обох груп (p < 0,01).

Таблиця 4

Показники рівня ФНП- α у всіх дітей, яким проводилося імунологічне обстеження (M \pm m)

Показник	Діти з НАЖХП (n=34)	Діти з ЕКО (n=33)	Здорові (n=20)
ФНП- α (норма до 6 пг/мл)	8,53 \pm 0,67*#	5,24 \pm 0,3#	4,25 \pm 0,2

Примітки: * – достовірність різниці порівняно з показниками дітей з ЕКО (p<0,01); # – достовірність різниці порівняно з показниками здорових.

30,3%. Таким чином, за отриманими даними встановлено, що серед пацієнтів із діагностованою НАЖХП відмічалася найбільша частота «дикого типу» гена PPAR γ 2 (Pro/Pro – 88,2%), яка практично в 7 разів перевищувала кількість носіїв алеля Ala – 11,8%. Таким чином, за даними таблиці 2, виявлена різниця на рівні статистичної достовірності лише між групами популяційного контролю та пацієнтами з НАЖХП ($\chi^2=5,17$; ВШ=4,40 (1,32–14,64); p=0,023).

При порівнянні частот алелей між досліджуваними групами встановлено, що серед дітей з верифікованою НАЖХП «мінорний» алель 12Ala зустрічався майже в 4 рази рідше порівняно з хворими на ЕКО і групою популяційного контролю ($\chi^2=5,78$; ВШ=4,16 (1,35–12,88); p=0,016 та $\chi^2=4,59$; ВШ=3,92 (1,21–12,75); p=0,032 відповідно). Аналіз отриманих результатів вже на даному етапі дав змогу припустити, що найнижчий рівень поширеності мутантного алеля 12Ala гена PPAR γ 2 серед пацієнтів із жировою дегенерацією печінки може опосередковано свідчити про його протективну дію щодо розвитку патології.

На думку багатьох науковців, розвиток НАЖХП тісно пов'язаний з формуванням МС в осіб із надлишковою масою тіла та ожирінням [2, 13], саме тому наступним етапом нашої роботи стало виявлення асоціації між наявністю в обстежуваних дітей «мінорного» алеля 12Ala та вираженістю окремих компонентів, які формують кластер метаболічного симптомокомплексу.

Найбільш поширеним критерієм МС у дітей, гомозиготних за алелем 12Pro, виявився абдомінально-вісцеральний тип жиророзподілу, який відмічався у 77,4% обстежених, що було майже вдвічі частіше за поширеність даного показника серед пацієнтів-носіїв алеля 12Ala (табл. 3).

Аналізуючи показники ліпідного профілю, які відносяться до основних критеріїв МС у дітей та підлітків, ми не виявили достовірних відмінностей за частотою зниження ЛПВЩ $\leq 0,9$ ммоль/л (p>0,05) в обстежених обох груп, проте частота підвищення рівня ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л практично в 3,7 разу переважала в пацієнтів із «диким» генотипом Pro12Pro.

Дослідження стану вуглеводного обміну не виявило базальної гіперглікемії в жодній дитині з генотипом Pro12Ala та Ala12Ala гена PPAR γ 2, частота базальної гіперінсулінемії в носіїв «мінорного» 12 Ala алеля була достовірно нижчою за показники дітей з «диким» генотипом Pro12 Pro (p=0,048), а підвищення індексу НОМА спостерігалось практично в 4 рази рідше, ніж у дітей, гомозиготних за алелем 12Pro (p=0,002).

Дані про асоціацію поліморфізму гену PPAR γ 2 з розвитком артеріальної гіпертензії на сьогодні є суперечливими [14]. За результатами нашого дослідження, вірогідних відмінностей за частотою розвитку артеріальної гіпертензії в дітей та підлітків із різними генотипами PPAR γ 2 не виявлено (p>0,05), проте в осіб, гомозиготних за «диким» алелем 12Pro, відмічалася тенденція до підви-

щення рівня АТ ≥ 95 центиля, що зафіксовано більш ніж у третини (39,6%) обстежених пацієнтів. На нашу думку, схильність до підвищення артеріальної гіпертензії понад вікову норму в даній категорії пацієнтів можна пояснити патологічним впливом гіперінсулінемії, яка є одним із важливих предикторів розвитку артеріальної гіпертензії в дітей та підлітків з ожирінням.

Таким чином, проведений аналіз виявив статистично достовірні відмінності за частотою таких компонентів МС, як абдомінальне ожиріння ($\chi^2=4,76$; p=0,029), гіпертригліцеридемія ($\chi^2=17,65$; p<0,001), гіперінсулінемія ($\chi^2=4,36$; p=0,048) та інсулінорезистентність ($\chi^2=10,22$; p=0,002), які вірогідно частіше реєструвалися в дітей з «диким» Pro12Pro генотипом PPAR γ 2 порівняно з носіями мутантного алеля 12 Ala.

Важливим етапом нашого дослідження став порівняльний аналіз вмісту прозапального цитокину ФНП- α , який визначався імуноферментним методом, у крові пацієнтів із НАЖХП, хворих на ЕКО та здорових дітей, аналогічних за статтю та віком (табл. 4).

За отриманими даними, середні показники вмісту ФНП- α у пацієнтів із НАЖХП були статистично достовірно вищими за аналогічні показники в дітей з ЕКО (8,53 \pm 0,67 та 5,24 \pm 0,3 відповідно, p<0,01). Причому середній рівень даного прозапального цитокину в пацієнтів із НАЖХП був практично в 1,6 разу вищим за аналогічний показник у хворих на ЕКО та відповідно більш ніж удвічі перевищував показники групи здорових дітей (p<0,01). Перевищення нормативних значень вмісту ФНП- α (понад 6 пг/мл) відмічалось у 25 (73,5%) пацієнтів із НАЖХП, практично у третини – 10 (30,4%) обстежених з ЕКО та зовсім не реєструвалося серед здорових дітей.

З метою визначення ролі ФНП- α в розвитку метаболічних порушень в організмі ми проаналізували кореляційні взаємозв'язки між даним цитокином та основними показниками вуглеводного й ліпідного обміну та антропометричними характеристиками в дітей з НАЖХП. За результатами множинного кореляційного аналізу виявлено прямий зв'язок середньої сили між ФНП- α та ОТ (r=0,488; p<0,01), між ФНП- α та систолічним АТ (r=0,456; p<0,01) в обстежених дітей. Підвищений вміст ФНП- α при абдомінальному ожирінні пояснюється збільшенням функціональної активності вісцеральних адипоцитів і низкою метаболічних порушень, що спричиняють оксидативний стрес та експресію прозапальних цитокинів. Наявність прямих кореляційних зв'язків середньої сили між ФНП- α та концентрацією ІРІю (r=0,475; p<0,01), рівнем ФНП- α та значенням НОМАІR (r=0,493; p<0,01) свідчить про важливу роль адипоцитокіну в розвитку порушення чутливості тканин до дії інсуліну при МС у дітей та підлітків. Встановлено прямі кореляційні зв'язки між рівнем ФНП- α та окремими показниками ліпідного обміну: ТГ (r=0,568; p<0,01); ЛПНЩ (r=0,485; p<0,01) та КА (r=0,349; p<0,05). Нами не встановлено позитивних кореляційних зв'язків між вмістом ФНП- α та рівнем ЗХС та ЛПВЩ. Отримані дані свідчать, що секреція прозапального цитокину ФНП- α у дітей з абдомінальним типом ожиріння тісно пов'язана з розвитком інсулінорезистентності та атерогенними змінами ліпідного спектру крові.

За літературними даними, однією з функцій PPAR γ є їх протизапальна дія, опосередкована регулюючим впливом на секрецію прозапальних адипокінів, зокрема, і туморнекротизуючого фактора альфа (ФНП- α). Проте існуючі на сьогодні відомості про роль окремих груп цитокинів при різних варіантах алельного розподілу генів, які

Таблиця 5

Показники рівня ФНП- α в обстежених дітей залежно від генотипу PPAR γ 2, (M \pm m)

Показник	I група Pro/Pro (n=53)	II група Pro/Ala та Ala/Ala (n=14)
ФНП- α (норма до 6 пг/мл)	7,3 \pm 0,48*	5,4 \pm 0,56

Примітка: * – достовірність різниці порівняно з показниками дітей II групи (p<0,05).

їх регулюють, доволі суперечливі [15, 19]. Саме тому наступним етапом нашого дослідження став порівняльний аналіз вмісту ФНП-а в обстежених дітей залежно від генотипу гена PPAR γ 2 (табл. 5).

За отриманими даними, у дітей та підлітків із «диким» генотипом Pro12Pro гена PPAR γ 2 відмічався практично в 1,3 разу вищий середній рівень прозапального цитокіну ФНП-а, ніж у пацієнтів-носіїв мінорного 12 Ala алейла (7,3 \pm 0,48 та 5,4 \pm 0,56 відповідно, p<0,05). Слід зазначити, що підвищення рівня ФНП-а вище за референтні значення (>6 пг/мл) зафіксовано у 32 (60,4%) пацієнтів із «диким» генотипом гена PPAR γ 2 та лише у 3 (21,4%) дітей з мутантним алейлом 12Ala ($\chi^2=6,73$; p=0,014). Отримані результати не суперечать даним інших дослідників, які виявили взаємозв'язок між наявністю алейла 12Ala з більш низькими рівнями прозапального інтерлейкіну-6 в європейській популяції [21] та доводять імуносупресивну активність PPAR γ , більше виражену в осіб із 12Ala алейлом цих рецепторів.

Висновки

За даними проведеного молекулярно-генетичного обстеження, мутантний алейл 12Ala поліморфного маркера Pro12Ala гена PPAR γ 2 достовірно менше поширений серед пацієнтів із НЖХП (11,8%) порівняно з групою популяційного контролю (37%; p<0,05) і має тенденцію до нижчих показників порівняно з хворими на ЕКО (30,3%; p=0,117). Наявність «мінорного» алейла 12Ala поліморфного маркера Pro12Ala гена PPAR γ 2 у дітей та підлітків з ожирінням асоційована з меншим ризиком метаболічних порушень у вигляді інсулінорезистентності та дисліпидемії та достовірно нижчими показниками рівня цитокіну ФНП-а як одного з маркерів адипоцитарної дисфункції.

Результати проведеного дослідження доводять, що на сучасному етапі, за умов несприятливих факторів навколишнього середовища, до яких належить нераціональне харчування та низький рівень фізичної активності, поступово знижуються функції «бережливого генотипу» – накопичених у процесі еволюції генів, відповідальних за координування енергетичного балансу в організмі. Виникаючий вже в дитячій популяції генетичний поліморфізм є пристосувальною реакцією організму та може вважатися маркером зниженого ризику формування кластера МС та асоційованих із ним захворювань, зокрема, і жирової дегенерації печінки в дітей та підлітків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабак О.Я. Роль рецепторов PPAR в регуляции основных звеньев патогенеза метаболического синдрома / О.Я. Бабак, Н.Н. Клименко // Сучасні мед. технології. — 2010. — № 2. — С. 70—80.
2. Буторова Л.И. Неалкогольная жировая болезнь печени как проявление метаболического синдрома: эпидемиология, патогенез, особенности клинического проявления, принципы диагностики, современные возможности лечения: пос. для врачей / Л.И. Буторова. — Москва: Форте принт, 2012.
3. Громнацька Н.М. Інсулінорезистентність як провідний етіопатогенетичний кластер метаболічного синдрому у дітей та підлітків / Н.М. Громнацька // Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. — 2014. — Т. 5, № 1. — С. 20—26.
4. Звенигородская Л.А. Клинико-функциональные и морфологические изменения в печени у больных с метаболическим синдромом / Л.А. Звенигородская // Consilium Medicum. — 2007. — № 2. — С. 3—10.
5. Зелінська Н.Б. Метаболічний синдром у дітей / Н.Б. Зелінська // Здоров'я України. — 2013. — № 3. — С. 48—51.
6. Кайдашев И.П. NF- κ B-сигнализация как основа развития системного воспаления, инсулинорезистентности, липотоксичности, сахарного диабета 2-го типа и атеросклероза / И.П. Кайдашев // Международный эндокринологический журнал. — 2011. — № 3 (35). — С. 35—40.
7. Красильникова Е.И. Синдром инсулинорезистентности и печень / Е.И. Красильникова, А.А. Быстрова // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. — 2011. — № 2. — С. 24—30.
8. Маев И.В. Неалкогольная жировая болезнь печени: механизмы развития, клинические формы и медикаментозная коррекция. / И.В. Маев, Д.Н. Андреев, А.И. Евдокимова // Гастроэнтерология. — 2012. — № 2. — С. 46—58.
9. Неалкогольная жировая болезнь печени и метаболический синдром: единство патогенетических механизмов и подходов к лечению / Е.И. Ткаченко, Ю.П. Успенский, Л.Н. Белоусова [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2008. — № 2. — С. 92—96.
10. Профилактические мероприятия при неалкогольной жировой болезни печени: существует ли способ снизить риск развития заболевания? / О.Я. Бабак, Е.В. Колесникова, К.А. Сытник, Е.Г. Куриная // Сучасна гастроентерологія. — 2013. — № 5 (73). — С. 112—118.
11. Распространенность избыточной массы тела и повышенного артериального давления среди школьников разных регионов Украины / В.Г. Майданник [и др.] // Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. — 2013. — Т. 3, № 1. — С. 33—39.
12. Скрипник И.Н. Роль ядерных рецепторов в прогрессировании стеатогепатита / И.Н. Скрипник, А.Ф. Гопко // Новости медицины и фармации (Гастроэнтерология). — 2012. — № 4 (19). — С. 34—39.
13. Урсова Н.И. Жирова дистрофія печінки при метаболічному синдромі в практиці лікаря-педіатра / Н.И. Урсова // Лікуючий лікар. — 2010. — № 1. — С. 29—36.
14. Фармакогенетические особенности действия метформина у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца на фоне метаболического синдрома и сахарного диабета 2-го типа, с учетом полиморфизма гена PPAR γ 2 / А.В. Лавренко, О.А. Шлыкова, Л.А. Куценко [и др.] // Терапевтический архив. Кардиология. — 2012. — № 84 (9). — С. 35—40.
15. Glass C.K. Nuclear receptor transrepression pathways that regulate inflammation in macrophages and T cells / C.K. Glass, O.K. Saij // Nat. Rev. Immunol. — 2010. — № 10 (5). — P. 365—376.
16. IDF Consensus Group. The metabolic syndrome in children and adolescents — an IDF consensus report / P. Zimmet, K.G. Alberti, F. Kaufman [et al.] // Pediatr. Diabetes. — 2007. — № 5. — P. 299—306.
17. Kallwitz E.R. Role of peroxisome proliferators-activated receptors in the pathogenesis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease / E.R. Kallwitz, A. McLachlan, S.J. Cotler // World Journal of Gastroenterology. — 2008. — № 14 (1). — P. 22—28.
18. Mencin A.A. Advances in pediatric nonalcoholic fatty liver disease / A.A. Mencin, J.E. Lavine // Pediatr. Clin. North Am. — 2011. — № 58 (6). — P. 1375—1392.
19. Oeckinghaus A. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation / A. Oeckinghaus, S. Ghosh // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. — 2009. — № 1 (4). — P. 1123—1134.
20. Poulsen L.L. PPARs: fatty acid sensors controlling metabolism / L.L. Poulsen // Cell. Dev. Biol. — 2012. — № 130. — P. 3—30.
21. Role of interaction between variants in the PPAR γ and interleukin-6 genes on obesity related metabolic risk factors / M. Barbieri, M.R. Rizzo, M. Papa [et al.] // Exp. Gerontol. — 2007. — № 40 (7). — P. 599—604.
22. Sinatra F.R. Nonalcoholic fatty liver disease in pediatric patients / F.R. Sinatra // JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr. — 2012. — № 36 (1). — P. 43—48.

Генетические и иммунологические маркеры развития жировой дегенерации печени у детей и подростков с метаболическим синдромом

Т.О. Крючко, О.А. Пода, О.А. Шликова, О.В. Измайлова

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава, Украина

Цель — изучить распространенность полиморфизма Pro12Ala гена PPAR γ 2 у детей и подростков с экзогенно-конституциональным ожирением и неалкогольной жировой болезнью печени; определить его ассоциации с основными критериями метаболического синдрома и уровнем ФНО-а.

Пациенты и методы. Обследовано 67 детей в возрасте 7–17 лет. В основную группу (n=34) вошли дети с неалкогольной жировой болезнью печени, в группу сравнения (n=33) — пациенты с диагностированным ожирением без нарушений функций печени, популяционный контроль составили 46 здоровых лиц.

Результаты. По результатам молекулярно-генетического обследования, мутантный аллель 12Ala полиморфного маркера Pro12Ala гена PPAR γ 2 имел достоверно меньшую распространенность среди пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени по сравнению с группой популяционного контроля, а также тенденцию к более низким показателям по сравнению с больными экзогенно-конституциональным ожирением. Наличие «минорного» аллеля 12Ala гена PPAR γ 2 у детей и подростков с ожирением ассоциировалось с меньшим риском метаболических нарушений в виде инсулинорезистентности и дислипидемии и достоверно более низкими показателями уровня провоспалительного цитокина ФНО-а.

Выводы. Полученные результаты позволяют рекомендовать проведение генетического скрининга с определением генотипа гена PPAR γ 2 у детей и подростков с ожирением с целью определения степени риска развития метаболических нарушений и своевременного проведения профилактических мероприятий.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, ожирение, дети, гены, полиморфизм.

PERINATOLOGIYA I PEDIATRIYA.2014.4(60):61–66;doi10.15574/PP.2014.60.61

Genetic and immunological markers of fatty degeneration of the liver in children and adolescents with metabolic syndrome

T.A. Kryuchko, O.A. Poda, O.A. Shlykova, O.V. Izmaylova

Higher State Educational Establishment of Ukraine «Ukrainian Medical Stomatological Academy», Poltava, Ukraine

Purpose — study of the prevalence of polymorphism Pro12Ala PPAR γ 2 gene in children and adolescents with exogenous-constitutional obesity (ECO) and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and determine its association with the main criteria of MS and the level of TNF- α .

Patients and methods. 67 children aged 7 to 17 years were examined, of which 34 patients were diagnosed with NAFLD and 33 children with ECO without abnormal liver function. Population controls were 46 healthy individuals.

Results. As a result of molecular-genetic examination mutant allele 12Ala polymorphic marker Pro12Ala PPAR γ 2 gene is significantly lower prevalence among patients with NAFLD compared with a group of population control and a tendency in the lower compared with patients with ECO. The presence of «minor» allele 12Ala PPAR γ 2 gene in children and adolescents with obesity is associated with lower risk of metabolic disorders as dyslipidemia and insulin resistance and significantly lower performance levels of proinflammatory cytokines TNF- α .

Conclusions. The results enable us to recommend the use of genetic screening for identifying the gene PPAR γ 2 genotype in children and adolescents with obesity to determine the risk of metabolic disorders development and timely implement the preventive measures.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, obesity, children, genes, polymorphism

Сведения об авторах:

Крючко Татьяна Александровна — д.мед.н., проф., зав. кафедрой педиатрии № 2 ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия». Адрес: г. Полтава, ул. Шевченко, 34; тел. +38 (0532) 606-491; e-mail: drkryuchko@gmail.com.

Пода Ольга Анатольевна — аспирант каф. педиатрии №2 ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия»; Адрес: г. Полтава, ул. Шевченко, 34; тел. +38 (0532) 606-491; e-mail: olga-mirgorod2010@yandex.ru.

Шликова Оксана Анатольевна — к.м.н., ст. н. сотр. НИИ генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия». Адрес: г. Полтава, ул. Шевченко, 34; тел. (0532) 562-243; E-mail: congres2007@yandex.ru

Измайлова Ольга Витальевна — мл. н. сотр. НИИ генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия». Адрес: г. Полтава, ул. Шевченко, 34; тел. (0532)562-243; E-mail: congres2007@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 7.10.2014 г.