

**ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА АДІПОНЕКТИНУ  
(+276G > T) ТА ЕКСПРЕСІЯ СКЛАДОВИХ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОГО  
СТАНУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

Горшунська М. Ю.<sup>2</sup>, Караченцев Ю. І.<sup>1,2</sup>, Кравчун Н. О.<sup>1</sup>, Атраментова Л. О.<sup>1</sup>, Гладких О. І.<sup>1</sup>,  
Красова Н. С.<sup>1</sup>, Лещенко Ж. А.<sup>1</sup>, Тижненко Т. В.<sup>1</sup>, Опалейко Ю. А.<sup>1</sup>, Почерняєв А. К.<sup>1</sup>,  
Полтораєв В. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Даньківського НАМН України», м. Харків;

<sup>2</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти  
admin@iper.com.ua

Резистентність до інсуліну являє собою стрижневий чинник в патогенезі таких розповсюджених захворювань, як цукровий діабет (ЦД) 2 типу, атеросклероз та метаболічний синдром, часто асоційованих з ожирінням. Натепер доведено, що жирова тканина не тільки головне депо накопичення енергії, але й активний ендокринний орган, секретуючий велику кількість білків, які впливають на метаболізм [1]. Адипонектин — домінуючий секреторний білок адипоцитів — є одним із адіпокінів, що відіграють суттєву роль в підтриманні чутливості до інсуліну. Він являє собою сильний інсуліносенситайзер в м'язах та печінці, регулюючи у такий спосіб енергетичний гомеостаз та толерантність до глюкози [2, 3]. У хворих за інсулінорезистентного стану (ЦД 2 типу, ожиріння, гіпертонічна хвороба та хвороба коронарних судин) рівні адипонектину в кровоплинні перманентно нижчі порівняно до контрольних осіб [4–7].

Геномне сканування локусу інсулінорезистентності кількісно визначило характеристики місця положення (3q27) гена адипонектину (*ADIPOQ*), яке пов'язано із чутливістю до метаболічного синдрому, ЦД 2 типу та кардіоваскулярної хвороби [8–10]. Таким чином, сформована уява щодо гена адипонектину як гена-кандидата стосовно інсулінорезистентності. І дійсно, за результатами деяких досліджень, повідомлено про асоціацію між однонуклеотидними поліморфізмами (ОНП) гена адипонектину та ЦД

2 типу [11, 12] або резистентністю до інсуліну [13, 14].

Однонуклеотидний поліморфізм +276G > T гена *ADIPOQ* являє собою один з найбільш часто досліджуваних, однак результати різних робіт, присвячених визначенню його функціональної ролі, характеризуються суперечливістю. Так, в ряді досліджень доведено взаємозв'язок G алелю із інсулінорезистентністю, ожирінням, ЦД 2 типу та гіпоадипонектинемією [12, 15–19]. Зокрема, наявні повідомлення про більшу виразність інсулінорезистентності у опаслих пацієнтів — носіїв G алелю відносно TT генотипу (але достеменно вищим НОМА-IR індексом у носіїв GT vs GG), за відсутності впливу +276G > T поліморфізму на рівні циркулюючого адипонектину [20]. В протипагу, в інших роботах T алель був визначений як такий, що асоційований із низькими рівнями адипонектину, зсувами в ліпідному профілі, інсулінорезистентністю та ЦД 2 типу [21–23].

Причина такого часткового розходження результатів невідома, але суттєвим видається гетерогенність генетичного підґрунтя в досліджених популяціях, різних за етнічністю. Слушно також зауважити, що у всебічному огляді С. Menzaghi (2007) [24] показано, що декілька ОНП *ADIPOQ* асоційовані із рівнями адипонектину та інсулінорезистентністю, але жодний з них не є постійно асоційованим із діабетом або з ожирінням, визначеним за індексом маси тіла (ІМТ). В

зв'язку з цим підкреслюється необхідність розширеного пошуку генетичних варіацій в самому *ADIPOQ* гені та в генах, розташованих біля нього. В доповнення, автори наголошують на ймовірність того, що деякі ОНП *ADIPOQ* асоційовані із рівнями адипонектину, тоді як інші — з інсулінорезистентністю та метаболічними характеристиками, детермінованими діабетом.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Загальне клінічне обстеження пройшли 544 хворих на ЦД 2 типу віком від 27 до 80 років (241 чоловік, середній вік  $47,71 \pm 0,63$  років; 303 жінки, середній вік  $57,85 \pm 0,51$  років). Із них 60 хворих мали нормальну масу тіла, 113 — надлишок відкладення жиру (ІМТ 26-29  $\text{кг}/\text{м}^2$ ), 371 — ожирінням центрального типу, у яких ІМТ був не нижче 30  $\text{кг}/\text{м}^2$ .

Серед залученого загалу хворих у 366 осіб діабет був обтяжений ішемічною хворобою серця (ІХС), сполученою у 323 випадках з есенціальною гіпертонією. Діабетичні мікроангіопатії, а саме нейропатія, ретинопатія та нефропатія без ознак хронічної ниркової недостатності, діагностовані у 436, 391 та 72 пацієнтів, відповідно. Антидіабетична терапія включала пероральні цукрознижючі препарати — сульфаніламід, бігуанід або їх поєднання. В доповнення до загальноприйнятого лабораторного дослідження визначалися нижченаведені показники.

Вільні жирні кислоти (ВЖК) вимірювалися за використанням набору Wako Diagnostics (Richmond, США). Рівень інсуліну в сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу (DRG, Німеччина). Інсулінорезистентність верифікували за антропометричними, метаболічними показниками, а також за підвищенням індексу НОМА-ІР (Homeostasis Model Assessment) [25], який ґрунтується на одночасному визначенні індивідуальних рівнів інсуліну і глюкози в сироватці крові натще. Чутливість до інсуліну оцінювали за QUICKI [26]. Рівень загального адипонектину в сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу (Biovendor, Чеська Республіка).

Нами здійснено дослідження, мета якого була скерована на пріоритетне визначення в українського загалу хворих на ЦД 2 типу функціональної ролі одиничного поліморфізму в локусі  $+276G > T$  гена адипонектину стосовно визначальних ланок інсулінорезистентного фенотипу.

Також була зібрана інформація про 215 практично здорових мешканців м. Харкова та області (145 чоловіків, 70 жінок), віком від 20 до 61 року (середній вік на момент обстеження для чоловіків  $41,61 \pm 1,55$  років, для жінок  $42,1 \pm 2,01$  років). З контрольної вибірки виключено осіб з ознаками ІХС, ЦД та артеріальної гіпертензії. Зразки крові здорових донорів були зібрані на базі Харківської обласної станції переливання крові. Відповідно до вимог біоетики була отримана добровільна згода мешканців м. Харкова на участь у дослідженні і проведено відповідне анкетування.

ДНК виділена з лейкоцитів за допомогою іонообмінної смоли Chelex-100 [27]. Однонуклеотидну заміну  $+276G > T$  (rs1501299) визначали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на програмованому термоциклері фірми «Biometra» (Німеччина) з подальшою рестрикцією продуктів ампліфікації. Для ампліфікації фрагмента гена *ADIPOQ*, що містить поліморфний сайт  $+276G > T$ , використані прямий (*ADIPOQ276F GGCCTCTTTTCATCAC AGACC*) і зворотний (*ADIPOQ276R AGA TGCAGCAAAGCCAAAGT*) праймери. В якості маркера молекулярної маси була використана ДНК рUC19, гідролізована ендонуклеазою *MspI*. Фрагменти ДНК після рестрикції ендонуклеазою *MvaI269I (BsmI)* розділяли за допомогою електрофореза в 2% агарозному гелі [28]. Наявність сайту рестрикції на електрофореграмі проявляється у вигляді двох фрагментів ДНК довжиною 148 і 48 п.н., що відповідає гомозиготному генотипу *GG*. За відсутності сайту рестрикції на електрофореграмі виявляється фрагмент завдовжки 196 п.н., що

відповідає генотипу *TT*. Гетерозиготному генотипу *GT* відповідають три фрагменти ДНК завдовжки 196, 148 і 48 п. н.

В подальшому результати генотипування були підтверджені ДНК-секвенуванням рендомно відібраних проб (ПЛР — ампліфіковані зразки ДНК). Визначення нуклеотидних послідовностей фрагментів ДНК, отриманих за допомогою ПЛР, проводили з використанням набору для секвенування («BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit») та прямого праймера до ПЛР-продукту згідно інструкцій виробника за допомогою автоматичного ДНК-секвенатора «Genetic Analyser 3130» («Applied Biosystems», США) у відділі функціональної геноміки Інституту молекулярної біології та генетики НАН України. Послідовність аналізували за допомогою програмного забез-

печення «Sequencing Analysis» («Applied Biosystems») та Chromas 1.55 (Technelysium LTD, Австрія).

Статистичний аналіз проведено за програмним комплексом SPSS, версія 13 [29]. Нормальність розподілу змінних визначили за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосували непарний двобічний *t* критерій Стюдента; для порівняння показників із розподілом, що не відповідає нормальному, — критерій Манна-Уїтні. Для статистичної оцінки розбіжностей, спостережуваних між емпіричними і теоретичними частотами варіаційного ряду, застосовувався критерій  $\chi^2$  з поправкою Йейтса. Перевірка нульових гіпотез проведена з використанням критеріїв *t*, *F* і  $\chi^2$  на рівні значущості  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати виконаного нами генотипування (544 хворих на ЦД 2 типу та 215 контрольних осіб) представлено в табл. 1. Частоти алелей у чоловіків і жінок значуще не розрізнялися (порівняння частот алелей проведено методом  $\varphi$ -трансформації часток

з використанням критерію *F*). Оскільки частоти алелей та розподіл генотипів у чоловіків і жінок по кожній з досліджених груп значуще не різнилися, то подальший аналіз проводили без урахування статі.

Мажорним алелем в досліджених гру-

Т а б л и ц я 1

**Розподіл генотипів та частота *G* та *T* алелей однонуклеотидного поліморфізму +276*G* > *T* гена адипонектину у хворих на цукровий діабет 2 типу та осіб контрольної групи**

Група	Генотип, n (%)						Частота алелей	
	<i>GG</i>		<i>GT</i>		<i>TT</i>		чол.	жін.
	чол.	жін.	чол.	жін.	чол.	жін.		
Контроль	69 (47,6)	33 (47,1)	65 (44,8)	28 (40,0)	11 (7,6)	9 (12,9)	$p_G = 0,700$	$p_G = 0,671$
	102 (47,4)		93 (43,3)		20 (9,3)		$p_T = 0,300$ $p_T = 0,329$	
Хворі на ЦД 2 типу	80 (33,2)	122 (40,3)	130 (53,9)	120 (39,6)	31 (12,9)	61 (20,1)	$p_G = 0,602$	$p_G = 0,601$
	202 (37,1)		250 (46,0)		92 (16,9)		$p_T = 0,398$ $p_T = 0,399$	
	202 (37,1)		250 (46,0)		92 (16,9)		$p_G = 0,601$ $p_T = 0,399$	

Статистики: розподіл генотипів у чоловіків і жінок контрольної групи ( $\chi^2 = 0,8$ ;  $\chi^2_{0,05} = 3,84$ ;  $p > 0,05$ ) та в групі хворих ( $\chi^2 = 0,01$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,84$ ,  $p > 0,05$ ); розподіл генотипів у хворих на ЦД 2 типу та контрольних осіб ( $\chi^2 = 10,29$ ,  $\chi^2_{0,01} = 6,64$ ,  $p < 0,01$ ); розподіл частот алелей чоловіків і жінок контрольної групи ( $F = 0,00$ ;  $F_{0,05} = 3,9$ ;  $p > 0,05$ ) і в групі хворих ( $F = 0,00$ ;  $F_{0,05} = 3,64$ ;  $p > 0,05$ ).

П р и м і т к а. n — число спостережень;  $p_G$ ,  $p_T$  — частота алеля *G* та *T*;  $p$  — рівень значущості відмінностей; чол. — чоловіки; жін. — жінки.

пах є *G*: його частота в контрольній групі склала 0,691, а у діабетичного загалу — 0,601. Відповідно, у останнього підвищена частота мінорного алеля *T* (0,399 vs 0,309). Розподілення генотипів в кожній групі обстежених відповідає рівнянню Харді-Вайнберга (контроль —  $\chi^2=0,03$ ,  $\chi^2_{0,05}=3,84$ ,  $p>0,05$ ; хворі на ЦД 2 типу —  $\chi^2=0,82$ ,  $\chi^2_{0,05}=3,84$ ,  $p>0,05$ ). При цьому в групі хворих на ЦД 2 типу підвищена питома вага гомозигот *TT* (16,9 vs 9,3% в контролі) та відповідно знижено відсоток опозитних гомозигот *GG* (37,1 vs 47,4%). Гомозиготність за мінорним алелем *T* збільшує ймовірність розвитку ЦД 2 типу в популяції: відношення шансів (*OR* — odds ratio) склало 1,98 (95% ДІ 1,14 — 3,32;  $p<0,05$ ). Гомозиготність за мажорним алелем *G* знижує ризик захворювання (*OR* 0,66; 95% ДІ 0,48 — 0,90;  $p<0,05$ ), а гетерозиготність (носії *GT*) не впливає на нього (*OR* 1,10; 95% ДІ 0,80 — 1,52;  $p>0,05$ ).

Клінічні, біохімічні та інструментальні показники у хворих на ЦД 2 типу, стратифікованих за поліморфізмом *+276G>T* гена *ADIPOQ*, наведені в табл. 2 та 3.

Слід зазначити подібність віку хворих на ЦД 2 типу при діагностуванні захворювання та на час обстеження, тривалості діабету, систолічного та діастолічного тиску, як і показників функції нирок, активності печінкових ферментів, вмісту фібриногену та фібрину в кровоплині носіїв трьох досліджених генотипів (*GG*, *TT*, та *GT*). Не було також значущих відмінностей за урахуванням генотипів в частоті макро- та мікроангіопатій (дані не наводяться).

Розподілені у такий спосіб хворі характеризувалися наявністю надлишкової маси тіла або ожиріння (переважно), інсулінорезистентністю (за базальною гіперінсулінемією, показниками НОМА-IR, QUICKI, рівнями ВЖК, гіпертригліцеридемією), недостатністю глікемічного контролю (суб- або декомпенсація), дисліпідемією, гіпоадипонектинемією. Зокрема, порівняно до контрольних практично здорових осіб подібного віку ( $n=12$ ) рівні загального адипонектину у кровоплині хворих на ЦД 2 типу ( $n=256$ ) склали  $4,99 \pm 0,16$  мкг/мл проти  $11,80 \pm 1,45$  мкг/мл ( $p<0,001$ ). Слід зазна-

чити, що за умов вищевказаної гіпоадипонектинемії у всього діабетичного загалу спостерігався модулюючий вплив генотипу за *+276G>T* поліморфізмом гена *ADIPOQ* на її виразність, а саме, у гомозигот *GG* діагностовано декілька менші циркулюючі рівні загального адипонектину порівняно до визначених у носіїв *T* алелю — гомозигот *TT* і гетерозигот *GT* як роздільно (відповідно,  $p<0,1$  та  $p<0,02$ , див табл. 3), так і сукупно (сумарні рівні адипонектину у носіїв *TT+GT* склали  $5,29 \pm 0,21$  мкг/мл, а відсоткова відмінність порівняно до гомозигот *GG* — 16,06%,  $p<0,01$ ).

Дотепер все ще залишається відкритим питання, як ОНП *+276G>T*, локалізовані в інtronі 2 гена адипонектину, впливають на його функцію. Хоча можливий ефект на експресію гена одиничних нуклеотидних поліморфізмів без очевидного біологічного значення не може бути виключеним, що нещодавно також було виявлено для гена адипонектину [30], більш ймовірним вважається те, що цей ОНП знаходиться в нерівноважному зчепленні з іншими мутаціями або в цьому гені, або з іншими генами, близько розташованими до гена адипонектину, що детермінує його негативні ефекти. G. Menzaghi та співавт. (2002) повідомили, що ОНП *+276G>T* знаходиться майже в повному нерівноважному зчепленні з 'A' вставкою в 3'UTR (область, що не трансклюється) гена адипонектину (ОНП+2019). 3'UTR області є загально визнаними як ті, що відіграють центральну роль в регуляції експресії гена [31, 32] і +2019 вставка може розривати один із регуляторних елементів гена адипонектину 3'UTR області, змінюючи процесинг, трансляцію або деградацію мРНК. Цікаво, що поліморфізми в 3'UTR інших генів, змінюючих стабільність мРНК, були пов'язані із інсулінорезистентністю [33]. Така можливість також підтверджується двома незалежними спостереженнями, які повідомляють про зменшені рівні адипонектину, асоційовані з генетичними варіантами гена адипонектину [13, 15] за включенням і ОНП *+276G>T*. Разом з тим, визначена в нашому дослідженні суттєва гіпоадипонектинемія у всіх групах хворих, стратифікованих за генотипом, на тлі співстав-

ного ступеня недостатності довгострокового глікемічного контролю та інсулінорезистентності (перманентна гіперінсулінемія натще, підвищені рівні ВЖК, індекси НОМА-IR та знижені показники QUICKI) обґрунтовує детермінуюче значення гормонально-ме-

таболічного дисбалансу, притаманного ЦД 2 типу (гіперінсулінемії, глюко- та ліпо-токсичності), а не генетичного компоненту, визначеного за ОНП  $+276G > T$  гена *ADIPOQ*, для генезу низьких циркулюючих рівнів адипонектину. Однак не виключає-

Т а б л и ц я 2

**Клініко-біохімічні та інструментальні характеристики хворих на цукровий діабет 2 типу — носіїв різних генотипів за однонуклеотидним поліморфізмом  $+276G > T$  гена *ADIPOQ***

Показник	Генотип		
	<i>GG</i>	<i>GT</i>	<i>TT</i>
Тривалість діабету, роки	7,58 ± 1,43	8,01 ± 0,94	7,67 ± 0,68
Вік на час обстеження, роки	56,91 ± 0,69	55,91 ± 1,01	55,89 ± 0,56
Вік на початку захворювання, роки	49,81 ± 1,51	48,25 ± 1,29	48,65 ± 1,01
Систолічний тиск, ммHg	144,16 ± 3,47	145,11 ± 3,07	149,63 ± 2,7
Діастолічний тиск, ммHg	84,29 ± 1,89	86,05 ± 1,91	87,78 ± 1,30
Загальний холестерин, ммоль/л	5,81 ± 0,11 <sup>4</sup>	6,33 ± 0,17	6,04 ± 0,09
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,13 ± 0,03 <sup>3'</sup>	1,14 ± 0,05 <sup>I</sup>	1,26 ± 0,03
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	3,39 ± 0,08 <sup>4'</sup>	3,70 ± 0,18	3,78 ± 0,08
Тригліцериди, ммоль/л	2,69 ± 0,20 <sup>3</sup>	3,72 ± 0,39 <sup>II</sup>	2,73 ± 0,14
К-г атерогенності	4,19 ± 0,18 <sup>1'</sup>	6,40 ± 1,50	4,79 ± 0,29
$\beta$ -ліпопротеїди, од.	80,21 ± 2,26 <sup>2,2'</sup>	89,94 ± 4,57	93,59 ± 5,44
АсАТ, од.	0,63 ± 0,03	0,98 ± 0,36	0,62 ± 0,02
АлАТ, од.	0,90 ± 0,05	1,00 ± 0,08	0,96 ± 0,05
Рекальцифікація плазми, с	28,23 ± 0,27 <sup>2'</sup>	28,73 ± 1,04	27,44 ± 0,25
Протромбіновий індекс, %	94,45 ± 0,49 <sup>2'</sup>	93,11 ± 1,36 <sup>I</sup>	96,27 ± 0,66
Фібриноген, г/л	2,82 ± 0,05	5,32 ± 2,50	2,84 ± 0,06
Фібрин, мг	12,75 ± 0,20	12,66 ± 0,30	12,71 ± 0,22
Фібринолітична активність, хв.	258,32 ± 3,97 <sup>1</sup>	268,45 ± 4,65	262,60 ± 3,11
Нв, г/л	142,08 ± 0,98 <sup>4'</sup>	143,29 ± 2,10	146,40 ± 0,77
Кольоровий показник	0,92 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,93 ± 0,01
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	6,46 ± 0,13 <sup>4,1'</sup>	5,87 ± 0,18	6,15 ± 0,11
Еозинофіли, %	1,68 ± 0,08	1,59 ± 0,11	1,81 ± 0,08
ШОЕ, мм/год	11,56 ± 0,57 <sup>3'</sup>	10,87 ± 0,91	9,78 ± 0,49
Сечовина крові, ммоль/л	6,49 ± 0,37	8,01 ± 1,35	6,50 ± 0,33
Сечовина сечі, ммоль/добу	389,07 ± 8,55	406,54 ± 12,07	387,72 ± 7,70
Креатинін крові, ммоль/л	103,42 ± 4,45	99,78 ± 1,61	103,22 ± 3,04
Креатинін сечі, ммоль/добу	9,29 ± 0,32	11,51 ± 1,36	9,35 ± 0,33
Клубочкова фільтрація, мл/хв.	88,81 ± 2,58	98,69 ± 6,61	92,33 ± 2,72
Канальцева реабсорбція, %	98,14 ± 0,08	98,14 ± 0,15	98,27 ± 0,07

П р и м і т к а.

1. Рівень значущості відмінностей *GG* vs *TT*: <sup>1</sup> —  $p < 0,1$ ; <sup>2</sup> —  $p < 0,05$ ; <sup>3</sup> —  $p < 0,02$ ; <sup>4</sup> —  $p < 0,01$ .
2. Рівень значущості відмінностей *GG* vs *GT*: <sup>1'</sup> —  $p < 0,1$ ; <sup>2'</sup> —  $p < 0,05$ ; <sup>3'</sup> —  $p < 0,002$ ; <sup>4'</sup> —  $p < 0,001$ .
3. Рівень значущості відмінностей *TT* vs *GT*: <sup>I</sup> —  $p < 0,05$ ; <sup>II</sup> —  $p < 0,02$ .

Параметри інсулінорезистентності (антропометричні, метаболічні, гормональні), чутливості до інсуліну (QUICKI) та функції панкреатичних  $\beta$ -клітин у хворих на цукровий діабет 2 типу, стратифікованих за генотипом (ОНП +276 G > T гена ADIPOQ)

Показник	Генотип		
	GG	GT	TT
Маса тіла, кг	91,40 ± 1,56 n = 193	92,70 ± 2,16 n = 88	90,61 ± 1,10 n = 239
Зріст, см	167,87 ± 0,62 n = 193	167,24 ± 0,76 <sup>3</sup> n = 88	169,29 ± 0,61 n = 241
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	31,73 ± 0,38 n = 191	32,44 ± 0,65 n = 87	31,31 ± 0,32 n = 239
ОТ/ОС	1,02 ± 0,04 n = 130	0,98 ± 0,02 n = 48	0,97 ± 0,01 n = 128
НbA <sub>1c</sub> , %	7,72 ± 0,45 n = 187	7,61 ± 0,17 n = 84	7,49 ± 0,10 n = 235
Глікемія натще, ммоль/л	9,22 ± 0,24 n = 186	10,47 ± 1,07 n = 85	9,69 ± 0,22 n = 225
Інсулін натще, пмоль/л	126,82 ± 7,65 n = 113	144,33 ± 16,17 n = 51	125,89 ± 7,99 n = 128
НОМА-IR	8,10 ± 0,60 n = 113	9,38 ± 1,13 n = 51	7,84 ± 0,49 n = 128
QUICKI	0,47 ± 0,01 n = 113	0,47 ± 0,01 n = 51	0,47 ± 0,01 n = 128
НОМА функція $\beta$ -клітин	125,50 ± 21,26 n = 113	101,97 ± 29,11 n = 51	99,18 ± 11,22 n = 128
ВЖК, ммоль/л	1,42 ± 0,06 n = 186	1,45 ± 0,07 n = 85	1,36 ± 0,04 n = 223
Адипонектин, мкг/мл	4,44 ± 0,25 <sup>1,2</sup> n = 101	5,25 ± 0,38 n = 46	5,31 ± 0,25 n = 109

Примітка. n — кількість обстежених, <sup>1</sup> — GG vs TT, p < 0,1; <sup>2</sup> — GG vs GT, p < 0,02; <sup>3</sup> — TT vs GT, p < 0,05.

тється і потенційний модулюючий вплив такого поліморфізму на біологічні ефекти цього адипоцитокіну (інсулінсенсibiliзуючі, інсулінміметичні, антиатерогенні та інші), які можуть бути пов'язані, зокрема, зі зміною за цих умов найбільш активної частки адипонектину з високою молекулярною вагою в структурі рівнів загального адипонектину. Так, у гомозигот GG відносно гомозигот TT визначено меншу виразність дисліпідемії за деякими параметрами ліпідного профілю, а саме, рівнями загального холестерину (p < 0,01), тригліцеридів (p < 0,02) та  $\beta$ -ліпопротеїдів (p < 0,05) на тлі більшої (на 15,4%) гіпоадипонектинемії у гомозиготних носіїв G алелю (p < 0,1).

Визначено також вплив ступеня відкла-

дення жиру на взаємозв'язок між генотипом та ступенем інсулінорезистентності (табл. 4). Так, за умов нормального відкладення жиру (ІМТ 24–25 кг/м<sup>2</sup>) у носіїв T алелю (GT та TT) відносно гомозигот GG визначені більш високі індекси НОМА-IR (відповідно, p < 0,01 та p < 0,02). За умов зростаючого відкладення жиру, переважно за наявності ожиріння, спостерігалось подібне за ступенем значуще зростання інсулінорезистентності у носіїв всіх досліджених генотипів, тобто у такий спосіб верифіковано зникнення модулюючого впливу на її виразність поліморфізмів +276G > T гена ADIPOQ. Зворотна значуща динаміка чутливості до інсуліну, а саме її зменшення, верифіковано по мірі зростання жирових відкладень за нівелю-

ванням генотипічних відмінностей, визначених за умов нормального відкладення жиру (гомозиготам *GG* була притаманна більша чутливість до інсуліну відносно гетерозигот *GT*,  $p < 0,01$ , та гомозигот *TT*,  $p < 0,02$ ).

Напруження функціональної активності панкреатичних  $\beta$ -клітин, визначене за НОМА-алгоритмом, значуще зростало зі збільшенням відкладення жиру незалежно від верифікованого генотипу. Подібна відсутність впливу досліджених генетичних варіантів *ADIPOQ* на секреторну активність інсулінпродукуючого апарату підшлункової залози визначена також за умов нормального розподілу жиру (див. табл. 4). Отримані результати поглиблюють сучасну уяву про визначальну роль надлишкового відкладення жиру у формуванні інсулінорезистентного фенотипу. Цікаво, що при дослідженні італійської популяції, за виключенням хворих на ЦД 2 типу, з есенціальною

гіпертонією, ІХС та метаболічним синдромом у гомозигот *TT* спостерігалось значуще підвищення інсулінорезистентності за НОМА-алгоритмом, але тільки у осіб за відсутності надлишкового відкладення жиру ( $IMT < 26,2$ ) [21]. Останнє, на думку авторів, свідчить, що за наявності ожиріння ефект варіантів гена адипонектину занадто малий, щоб бути визначеним. Іншими словами, взаємодія стану маси тіла та гена адипонектину впливає на модулювання резистентності до інсуліну. Слід також зазначити можливе значення для регуляції гена адипонектину та впливу на цей процес односторонніх поліморфізмів як чинників оточуючого середовища (дієта, фізична активність, глікемічний індекс їжі), так і фармакологічних втручань, спроможних змінювати рівні адипонектину в циркуляції [34–36]. У цьому зв'язку доцільно зауважити, що у хворих на ЦД 2 типу корейської популя-

Таблиця 4

Параметри інсулінорезистентності, чутливості до інсуліну та функції панкреатичних  $\beta$ -клітин у хворих на цукровий діабет 2 типу, стратифікованих за ступенем відкладення жиру і генотипом ( $OHPI + 276 G > T$  гена *ADIPOQ*)

ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Генотип	Інсулін, пмоль/л	НОМА-IR	QUICKI	НОМА – $\beta$ -функція
24–25	<i>TT</i>	75,63 ± 10,11 <sup>IV</sup> n = 8	5,19 ± 0,54 <sup>I, III</sup> n = 8	0,49 ± 0,01 <sup>I, IV</sup> n = 8	36,60 ± 9,63 <sup>I, II</sup> n = 8
	<i>GT</i>	76,87 ± 6,80 <sup>VII, X</sup> n = 17	5,64 ± 0,66 <sup>2, IX</sup> n = 17	0,49 ± 0,01 <sup>3, VIII</sup> n = 17	48,85 ± 10,34 <sup>VII, VIII</sup> n = 17
	<i>GG</i>	68,04 ± 10,13 <sup>XIII, XVI</sup> n = 13	3,73 ± 0,34 <sup>XIV, XVI</sup> n = 13	0,53 ± 0,01 <sup>XII, XVI</sup> n = 13	69,95 ± 22,91 <sup>XV</sup> n = 13
26–29	<i>TT</i>	112,18 ± 15,05 <sup>V</sup> n = 14	6,36 ± 1,05 <sup>VI</sup> n = 14	0,48 ± 0,02 n = 14	123,51 ± 47,41 n = 14
	<i>GT</i>	122,71 ± 16,99 n = 29	7,39 ± 1,20 n = 29	0,50 ± 0,02 <sup>XI</sup> n = 29	96,52 ± 16,89 n = 29
	<i>GG</i>	122,76 ± 17,91 n = 22	7,23 ± 1,10 n = 22	0,48 ± 0,02 n = 22	168,32 ± 74,25 n = 22
≥ 30	<i>TT</i>	165,38 ± 22,17 n = 33	10,96 ± 1,52 n = 33	0,45 ± 0,01 n = 33	125,26 ± 26,74 n = 33
	<i>GT</i>	139,36 ± 11,26 n = 76	8,40 ± 0,65 n = 76	0,46 ± 0,01 n = 76	115,27 ± 17,34 n = 76
	<i>GG</i>	137,89 ± 9,23 n = 71	8,96 ± 0,74 n = 71	0,46 ± 0,01 n = 71	126,14 ± 24,44 n = 71

Примітка. n – кількість обстежених, <sup>1</sup> – *TT* vs *GG*,  $p < 0,02$ ; <sup>2</sup> – *GG* vs *GT*,  $p < 0,02$ ; <sup>3</sup> – *GG* vs *GT*,  $p < 0,01$ ; <sup>I</sup> – *TT* (24–25) vs *TT* (26–29),  $p < 0,1$ ; <sup>II</sup> – *TT* (24–25) vs *TT* (≥ 30),  $p < 0,05$ ; <sup>III</sup> – *TT* (24–25) vs *TT* (≥ 30),  $p < 0,02$ ; <sup>IV</sup> – *TT* (24–25) vs *TT* (≥ 30),  $p < 0,01$ ; <sup>V</sup> – *TT* (26–29) vs *TT* (≥ 30),  $p < 0,1$ ; <sup>VI</sup> – *TT* (26–29) vs *TT* (≥ 30),  $p < 0,02$ ; <sup>VII</sup> – *GT* (24–25) vs *GT* (26–29),  $p < 0,02$ ; <sup>VIII</sup> – *GT* (24–25) vs *GT* (≥ 30),  $p < 0,05$ ; <sup>IX</sup> – *GT* (24–25) vs *GT* (≥ 30),  $p < 0,02$ ; <sup>X</sup> – *GT* (24–25) vs *GT* (≥ 30),  $p < 0,001$ ; <sup>XI</sup> – *GT* (26–29) vs *GT* (≥ 30),  $p < 0,1$ ; <sup>XII</sup> – *GG* (24–25) vs *GG* (26–29),  $p < 0,05$ ; <sup>XIII</sup> – *GG* (24–25) vs *GG* (26–29),  $p < 0,01$ ; <sup>XIV</sup> – *GG* (24–25) vs *GG* (26–29),  $p < 0,001$ ; <sup>XV</sup> – *GG* (24–25) vs *GG* (≥ 30),  $p < 0,1$ ; <sup>XVI</sup> – *GG* (24–25) vs *GG* (≥ 30),  $p < 0,001$ .

ції в базальному стані була відсутня різниця у носіїв різних ОНП  $+276G > T$  щодо рівнів адипонектину, показників НОМА-IR та ліпідного профілю [34]. Разом з тим, за умов терапії антидіабетичним препаратом розіглітазоном доведено чіткий вплив ОНП  $+276G > T$  на ефективність вищезначеної фармакотерапії: ступінь зменшення глюкози крові натще та підвищення рівнів адипонектину в циркуляції після терапії розіглітазоном був найменшим у  $GG$  гомозигот порівняно до визначеного у хворих на ЦД з іншими генотипами [34].

Вищезначене обґрунтовує положення, що сукупність чинників довкілля, екзо- та ендофенотипу (стан відкладення жиру, метаболічний та гормональний дисбаланс), як і фармакотерапія, можуть впливати на експресію біологічних ефектів того чи іншого генотипу і у такий спосіб, в доповнення до

етнічної приналежності, пояснювати суперечливість результатів різних досліджень щодо функціонального значення однонуклеотидних поліморфізмів гена адипонектину.

Таким чином, отримані нами результати відносно ОНП  $+276G > T$  та їх співставлення з даними інших клінічних досліджень засвідчують детермінуюче значення етнічності та специфічності досліджуваної популяції (надмірна вага, ожиріння, ЦД) відносно модулюючої ролі ОНП  $+276G > T$  у формуванні складових інсулінорезистентного стану та проявів специфічної функціональної ролі цього поліморфізму (рівні загального адипонектину в циркуляції, утворення різних форм адипонектину, зокрема адипонектину з високою молекулярною вагою, якому притаманна найбільша біологічна активність) [37, 38].

## ВИСНОВКИ

1. У обстеженого загалу хворих на цукровий діабет 2 типу за переважанням глікемічної суб- та декомпенсації верифіковано значну інсулінорезистентність на підґрунті антропометричних, метаболічних та гормональних показників.
2. Ендо- та екзофенотипічні характеристики діабетичного загалу (інсулінорезистентність, ліпо- та глюкотоксичність, центральний тип відкладення жиру) являють собою детермінуючі чинники для формування виразної гіпоадипонектинемії.
3. Функціональне значення однонуклеотидного поліморфізму в локусі  $+276G > T$  гена адипонектину визначено як модулююче (доповнююче) щодо зниження рівнів загального адипонектину у кровоплинні (більше у носіїв  $GG$  генотипу відносно носіїв  $T$  алелю, тобто  $GT+TT$ ) та діабетичної дисліпидемії (менші порушення у гомозигот  $GG$  проти гомозигот  $TT$ ).
4. Доведено нівелюючий вплив зростаючого центрального відкладення жиру (переважно ожиріння) на асоційований із генотипом патерн інсулінорезистентності, а саме, визначену за умов нормального індексу маси тіла значущо меншу виразність інсулінорезистентності за НОМА-IR та зниження чутливості до інсуліну за QUICKI у носіїв  $G$  (гомозигот  $GG$  та гетерозигот  $GT$ ) відносно гомозигот  $TT$ .
5. Верифіковано значущий внесок генетичних варіантів в локусі  $+276G > T$  гена адипонектину до потенційного ризику розвитку цукрового діабету 2 типу в загальній популяції (протективний — гомозиготність за  $GG$ , та підвищуючий ризик захворювання — гомозиготність за  $TT$ ).

## ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)



1. Ahima RS, Flier JS. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(8):327-332.
2. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. *Nat Med* 2001; 7:941-946.
3. Turer AT, Scherer PE. *Diabetologia* 2012; 55(9):2319-2326.
4. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1595-1599.
5. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930-1935.
6. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(1):85-89.
7. Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, et al. *Hypertension* 2004; 43(6):1318-1323.
8. Kissebah AH, Sonnenberg G, EMyklebust J, et al. *Proc Nat Acad Sci USA* 2000; 97:4478-4483.
9. Vionnet N, Hani EH, Dupont S, et al. *Am J Hum Genet* 2000; 67(6):1470-1480.
10. Francke S, Manraj M, Lacquemant C, et al. *Hum Mol Genet* 2001; 10(24):2751-2765.
11. Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y, et al. *Diabetes* 2002; 51(7):2325-2328.
12. Hara K, Boutin P, Morn Y, et al. *Diabetes* 2002; 51:536-540.
13. Menzaghi C, Ercolino T, Paola RD, et al. *Diabetes* 2002; 51:2306-2312.
14. Stumvoll M, Tschrutter O, Fritsche A, et al. *Diabetes* 2002; 51:37-41.
15. Vasseur F, Helbecque N, Dina C, et al. *Hum Mol Genet* 2002; 11:2607-2614.
16. Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, et al. *Metabolism* 2003; 52:881-884.
17. Wong GW, Wang J, Hug C, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:10302-10307.
18. Pollin TI, Tanner K, O'Connell JR, et al. *Diabetes* 2005; 54:268-274.
19. González-Sánchez JL, Zabena CA, Martínez-Larrad MT, et al. *Obes Res* 2005; 13(5):807-812.
20. Belyaeva OD, Bazhenova EA, Berezina AV, et al. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo Universiteta* 2009; 4:36-48.
21. Filippi E, Sentinelli F, Trischitta V, et al. *Europ J Hum Genet* 2004; 12(3):199-205.
22. Berthier MT, Houde A, Côté M, et al. *J Lipid Res* 2005; 46(2):237-244.
23. Zacharova J, Chiasson JL, Laakso M, STOP-NIDDM Study Group. *Diabetes* 2005; 54(3):893-899.
24. Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. *Diabetes* 2007; 56(5):1198-1209.
25. Matthews DR, Hoske JP, Rudenski AS, et al. *Diabetologia* 1985; 28:412-419.
26. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. *J Clin Endocrinol Metabol* 2000; 85:2402-2410.
27. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. *BioTechniques* 1991; 10:506-513.
28. Reddy M, Kumar NK, Jamil K. *J Mol Biomark Diagn* 2012; 3:1-6.
29. Field A, *London*, 2005:779 p.
30. Yang WS, Tsou PL, Lee WJ, et al. *J Molec Med* 2003; 81(7):428-434.
31. Jupe ER, Badgett AA, Neas BR, et al. *Lancet* 2001; 357:1588-1589.
32. Wong PM, Yuan Q, Chen H, et al. *J Biol Chem* 2001; 276:33129-33138.
33. Xia JB, Sherer SW, Cohen PT, et al. *Diabetes* 1998; 47:1519-1524.
34. Kang ES, Park SY, Kim HJ, et al. *Diabetes Care* 2005; 28(5):1139-1144.
35. Jürimäe J, Purge P, Jürimäe T. *Eur J Appl Physiol* 2005; 93:502-505.
36. Qi L, Rimm E, Liu S, et al. *Diabetes Care* 2005; 28(5):1022-1028.
37. Mohammadzadeh G, Zarghami N. *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69(7): 764-771.
38. Heidemann Ch, Qi Sun MD, Rob M, et al. *Ann Intern Med* 2008; 149(5): 307-316.

## ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА АДІПОНЕКТИНУ (+276G > T) ТА ЕКСПРЕСІЯ СКЛАДОВИХ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОГО СТАНУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Горшунська М. Ю.<sup>2</sup>, Караченцев Ю. І.<sup>1,2</sup>, Кравчун Н. О.<sup>1</sup>, Атраментова Л. О.<sup>1</sup>,  
Гладких О. І.<sup>1</sup>, Красова Н. С.<sup>1</sup>, Лещенко Ж. А.<sup>1</sup>, Тижненко Т. В.<sup>1</sup>, Опалейко Ю. А.<sup>1</sup>,  
Почерняев А. К.<sup>1</sup>, Полторак В. В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Харківська медична академія післядипломної освіти  
admin@iper.com.ua

Досліджено однонуклеотидний поліморфізм +276G > T гена адипонектину (ADIPOQ) у хворих на цукровий діабет 2 типу (n = 544) і здорових мешканців міста Харкова (n = 215). Встановлено відсутність значущих відмінностей у частоті алелей за однонуклеотидним поліморфізмом +276G > T у хворих (p<sub>G</sub> = 0,691; p<sub>T</sub> = 0,309) та здорових (p<sub>G</sub> = 0,601; p<sub>T</sub> = 0,399). При цьому у хворих на діабет підвищена питома вага гомозигот TT і знижена гомозигот GG. Гомозиготність по мінорному алелю T значуще підвищує ризик захворювання в загальній популяції (OR 1,98; 95 % ДІ 1,14–3,32, p < 0,05), а гомозиготність по мажорному алелю G формує протективний ефект (OR 0,66; 95 % ДІ 0,48–0,90, p < 0,05). Функціональне значення однонуклеотидного поліморфізму в локусі +276G > T гена ADIPOQ для генезу гіпоадипонектинемії верифіковано як доповнює до детермінуючого впливу діабетичного ендотипу (гіперінсулінемія, інсулінорезистентність, глюко- і ліпотоксичність, центральний тип відкладення жиру).

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

## ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА АДІПОНЕКТИНА (+276 G > T) И ЭКСПРЕССИЯ СОСТАВЛЯЮЩИХ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОГО СОСТОЯНИЯ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Горшунская М. Ю.<sup>2</sup>, Караченцев Ю. И.<sup>1,2</sup>, Кравчун Н. А.<sup>1</sup>, Атраментова Л. А.<sup>1</sup>,  
Гладких А. И.<sup>1</sup>, Красова Н. С.<sup>1</sup>, Лещенко Ж. А.<sup>1</sup>, Тьжненко Т. В.<sup>1</sup>, Опалейко Ю. А.<sup>1</sup>,  
Почерняев А. К.<sup>1</sup>, Полторак В. В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования  
admin@iper.com.ua

Исследован однонуклеотидный полиморфизм +276G > T гена адипонектина (ADIPOQ) у больных сахарным диабетом 2 типа (n = 544) и здоровых жителей города Харькова (n = 215). Установлено отсутствие значимых различий в частоте аллелей по однонуклеотидному полиморфизму +276G > T у больных (p<sub>G</sub> = 0,691; p<sub>T</sub> = 0,309) и здоровых (p<sub>G</sub> = 0,601; p<sub>T</sub> = 0,399). При этом у больных диабетом повышен удельный вес гомозигот TT и снижен гомозигот GG. Гомозиготность по минорному аллелю T значительно повышает риск заболевания в общей популяции (OR 1,98; 95 % ДИ 1,14–3,32, p < 0,05), а гомозиготность по мажорному аллелю G формирует протективный эффект (OR 0,66; 95 % ДИ 0,48–0,90, p < 0,05). Функциональное значение однонуклеотидного полиморфизма в локусе +276G > T гена ADIPOQ для генеза гипoadипонектинемии верифицировано как дополняющее к детерминирующему влиянию диабетического эндотипа (гиперинсулинемия, инсулинорезистентность, глюко- и липотоксичность, центральный тип отложения жира).

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

**SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF ADIPONECTIN GENE (+276G > T)  
AND EXPRESSION OF INSULIN-RESISTANT STATE COMPONENTS IN PATIENTS  
WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS**

M. Yu. Gorshunsk<sup>2</sup>, Yu. I. Karachentsev<sup>1,2</sup>, N. A. Kravchun<sup>1</sup>, L. A. Atramentova<sup>1</sup>,  
A. I. Gladkih<sup>1</sup>, N. S. Krasova<sup>1</sup>, Zh. A. Leshchenko<sup>1</sup>, T. V. Tyzhnenko<sup>1</sup>, Yu. A. Opaleiko<sup>1</sup>,  
A. K. Pochernyayev<sup>1</sup>, V. V. Poltorak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv;

<sup>2</sup>Kharkiv Postgraduate Medical Academy

admin@ipep.com.ua

Single nucleotide polymorphism +276G > T of adiponectin gene (*ADIPOQ*) in type 2 diabetes mellitus patients (n=544) and healthy habitants (n=215) of Kharkiv was studied. There were no significant differences of single nucleotide polymorphism +276G > T frequencies for patients (p<sub>G</sub> = 0,691; p<sub>T</sub> = 0,309) and healthy subjects (p<sub>G</sub> = 0,601; p<sub>T</sub> = 0,399). However diabetic patients had increased percentage of homozygote *TT* and decreased percentage of homozygote *GG*. Homozygosity in the minor allele *T* enhances significantly risk of disease in general population (*OR* 1,98; 95 % *CI* 1,14–3,32, p < 0,05) and homozygosity in the major allele *G* creates protective effect (*OR* 0,66; 95 % *CI* 0,48–0,90, p < 0,05). Functional meaning of single nucleotide polymorphism in the locus +276G > T of *ADIPOQ* gene for hypoadiponectinemia genesis was verified as complementary to determining impact of diabetic endophenotype (hyperinsulinemia, insulin resistance, gluco- and lipotoxicity, central type of fat distribution).

**Key words:** single nucleotide polymorphism, adiponectin gene, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance.