

УДК 616-008.9:578-17)

ВИВЧЕННЯ ПОШИРЕНOSTI PRO12ALA ПОЛІМАРФІЗМУ ГЕНА ППАР- γ 2 В УКРАЇНСЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ З СИМПТОМАМИ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

І.П. КАЙДАШЕВ, Л.О. КУЦЕНКО, О.А. ШЛИКОВА, Л.В. БЕРКАЛО І.Л. СОЛОХІНА

Центральна науково-дослідна лабораторія, Вищий державний навчальний заклад «Українська медична стоматологічно академія», м. Полтава

Резюме. У популяції пацієнтів Полтавська області з симптомами метаболічного синдрому у вивчалася поширеність Pro12Ala поліморфізму гена ППАР- γ 2 з метою уточнення патогенетичних механізмів захворювань. Установлено, що в пацієнтів із дисліпідемією спостерігався підвищений рівень церуло-плазміну. Серед здорових осіб генотип Pro/Pro зустрічається у 6 разів частіше, ніж в осіб із наявністю метаболічного синдрому. Наявність алеля Ala можна вживати маркером розвитку метаболічного синдрому. Вивчення поширеності Pro/Ala поліморфізму гена ППАР- γ 2 в українській популяції наявністю метаболічного синдрому є перспективним щодо прогнозування та вибору індивідуальних методів терапії.

Ключові слова: метаболічний синдром, перо кейсом проліфератор-активуючи рецептори поліморфізм.

Вступ

На початку XXI століття уявлення про значущість метаболічного синдрому (МС) розширилися, домінуючими вважаються поєднання таких факторів ризику, як ожиріння, артеріальна гіпертензія, гіперхолестеринемія та цукровий діабет (ЦД).

Проведено понад 20 широкомасштабних досліджень на 5 континентах, що дало можливість оцінити тенденцію поширення МС в усьому світі. Загалом у популяції дорослого населення (30–69 років) МС виявляється в 15–25 % випадків. Не так давно були отримані результати російського дослідження, в якому показано, що МС зустрічається в 20,6 % дорослого населення, причому в жінок удвічі частіше; з віком число хворих збільшується [1, 2]. Нещодавно були проведені дослідження в сільському районі Полтавської області, які вказали, що серед чоловіків 35–68 років поширеність МС становила 2800 на 10 000 населення [3].

Відомі вчені світу, аналізуючи ситуацію з епідеміології МС, повідомляють про початок пандемії XXI століття, що охоплює індустріально розвинуті країни та загрожує демографічною катастрофою. Поширеність МС удвічі перевищує розповсюдженість ЦД, та в наступні 25 років очікується збільшення темпів його зростання на 50 % [1]. В останні роки встановлена суттєва роль у розвитку МС ядерних транскрипційних факторів — рецепторів, що активують проліферацію пероксисом (ППАР) [4–6]. Наявність деяких мутантних генів ППАР супроводжується розвитком тяжкої інсулінорезистентності з дисліпідемією та артеріальною гіпертензією [7]. Рецептори, що активують проліферацію пероксисом, а особливо ППАР- α та ППАР- γ здійснюють негативний регуляторний вплив на перебіг запального процесу та впли-

вають на функціонування Т-лімфоцитів, моноцитів, моноцитів/макрофагів, дендритних клітин та тучних клітин. Така протизапальна функціональна активність ППАР- γ сьогодні привертає увагу науковців різних галузей медицини [2].

Отже, МС слід розглядати як важливу медико-соціальну проблему, вирішення якої неможливе без урахування досліджень на молекулярно-біологічному рівні. Тому метою нашої роботи було вивчення поширеності Pro12Ala поліморфізму гена ППАР- γ 2 в українській популяції хворих із дисліпідемією для уточнення патогенетичних механізмів захворювань та покращення якості молекулярної діагностики.

Матеріали та методи

У дослідження було включено 115 пацієнтів, чоловіків та жінок, віком від 20 до 79 років, жителів Полтавської області.

Дослідження ліпідного обміну пацієнтів базувалося на визначенні в сироватці крові вмісту загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), тригліцеридів.

При визначенні вмісту загального холестерину та тригліцеридів використовували набори «Холестерин» та «Тригліцериди» («Біо-Ла-Тест», Чехія). Уміст холестерину ЛПВЩ визначали за методом [8], який ґрунтується на властивості ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності на відміну від ЛПВЩ утворювати нерозчинні комплекси з гепарином у присутності іонів марганцю. Для оцінки запального процесу в організмі визначали вміст церулоплазміну [9].

Щоб визначити алелі поліморфної ділянки Pro12Ala гена рецептора, які активують проліферацію ліпосом

Таблиця 1. Показники ліпідного обміну та рівня церулоплазміну в обстежених пацієнтах

Показники, що вивчалися	Групи обстежених	
	Контрольна (n = 22)	МС (n = 25)
Загальний холестерин, ммоль/л	5,29 ± 0,75	7,37 ± 0,84*
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,49 ± 0,45	2,00 ± 0,44*
Тригліцериди, ммоль/л	1,18 ± 0,40	2,06 ± 0,63*
Церулоплазмін, мг/л	358,82 ± 68,18	416,12 ± 70,77*

Примітка: * — вірогідні зміни досліджуваних показників ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Поширеність поліморфізму серед пацієнтів Полтавської області

Генотипи	Уся популяція (n = 68), абс. (%)	Контрольна група без дисліпідемії (n = 53), абс. (%)	МС (дисліпідемія) (n = 15), абс. (%)
Ala/Ala	3 (4,41)	1 (1,89)	2 (13,33)
Pro/Pro	50 (73,53)	43 (81,13)	7 (46,67)
Pro/Ala	15 (22,06)	9 (16,98)	6 (40,0)

Таблиця 3. Показники ліпідного обміну та генотипи для всієї популяції обстежених

Показники, що вивчалися	Ala/Ala (n = 3)	Pro/Pro (n = 50)	Pro/Ala (n = 15)
Загальний холестерин, ммоль/л	6,93 ± 1,32	5,56 ± 1,12*	5,99 ± 1,48
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,98 ± 0,80	1,50 ± 0,53	1,73 ± 0,66
Тригліцериди, ммоль/л	2,49 ± 0,80	1,70 ± 0,40	1,88 ± 0,91

Примітка: * — вірогідні зміни досліджуваного показника порівняно з відповідним показником генотипу Ala/Ala ($p < 0,05$).

(ППАР- γ 2), проводили виділення геномної ДНК із венозної крові обстежуваних методом фенол-хлороформної екстракції. Поліморфну ділянку гена ППАР- γ 2 ампліфікували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з використанням специфічних олигонуклеотидних праймерів ППАР- γ 2: 5'-СААGСССAGTCСТТТСТGTG-3' та 5'-САGGAААСAGСТАТGАССАGТGАAG-ГААТСGСТТТССG-3'. Ампліфікацію поліморфної ділянки ППАР- γ 2 гена проводили на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технологія», Москва) за такою програмою: денатурація 94 °С, 3 хв. 1 цикл; 34 цикли: 94 °С, 30 с; 56 °С, 30 с; 72 °С, 30 с; заключний цикл — 72 °С, 7 хв. Продукти ампліфікації інкубували з рестриктазою BstFNI (НВО «Сибензім», Новосибірськ) в Y буфері (33 mM Tris-ацетат pH 7,9; 10 mM магнію ацетат; 66 mM калію ацетат; 1 mM DTT) 12 годин при 60 °С. Продукти розщелення виявляли за допомогою електрофезу у 2,5% агарозному гелі. Гель забарювали етидіумом бромідом з подальшою візуалізацією результатів в УФ-світлі [10].

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали з використанням пакету програм Statistic Basic. Вірогідність відмінностей оцінювали за критерієм Стьюдента при рівні $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Дані про стан метаболізму ліпідів та запального процесу в обстежених нами групах наведені в табл. 1.

Як видно з табл. 1, серед усіх обстежених у 25 пацієнтів виявили підвищення показників ліпідного обміну. При цьому вміст загального холестерину в сироватці крові в осіб цієї групи був вищим у 1,4 раза, холес-

терину ЛПВЩ — в 1,3 раза, тригліцеридів — у 1,74 раза. Ці пацієнти і сформували групу із симптомами МС. За даними літератури відзначаються аналогічні зміни метаболізму ліпідів [11], що свідчать про збільшення атерогенного потенціалу крові. Роль тригліцеридів в атерогенезі є суперечливою й неоднозначною. Однак існують докази того, що підвищений рівень тригліцеридів у сироватці крові збільшує ризик основних серцево-судинних захворювань. Рівень тригліцеридів натже суттєво пов'язаний з ризиком інфаркту міокарда в майбутньому. Багаті на тригліцериди ліпопротеїни відіграють важливу роль у прогресуванні ішемічної хвороби серця, особливо за наявності ангіографічних ознак стенозу коронарних артерій [12].

Відомо, що первинні медіатори запалення активують синтез гепатоцитами вторинних медіаторів — функціональний комплекс білків гострої фази, одним із яких є церулоплазмін [13]. Наші дослідження показали, що вміст церулоплазміну в сироватці крові пацієнтів із симптомами МС був значно вищим (на 16 %) порівняно з показниками контрольної групи. Так, якщо серед пацієнтів контрольної групи середній рівень церулоплазміну становив 358,82 ± 68,18 мг/л, то у пацієнтів із МС — 416,12 ± 70,77 мг/л. Можливо, певною мірою концентрація церулоплазміну може вважатися маркером підвищеного ризику запалення.

Отже, значно виражені порушення обміну тригліцеридів, холестерину та підвищений рівень церулоплазміну спостерігалися в пацієнтів із симптомами МС (табл. 2).

Визначення та дослідження алелей гена ППАР- γ 2 проводили у 68 пацієнтів. Розподіл алелей у популяції

Таблица 4. Характеристика ліпідного обміну в пацієнтів із симптомами МС при різних генотипах

Показники, що вивчалися	Ala/Ala		Pro/Pro		Pro/Ala	
	Контроль (n = 1)	МС (n = 2)	Контроль (n = 43)	МС (n = 7)	Контроль (n = 9)	МС (n = 6)
Загальний холестерин, ммоль/л	5,64	7,58 ± 0,98	5,03 ± 0,66	7,13 ± 0,48*	4,97 ± 0,83	7,52 ± 0,64*
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,09	2,43 ± 0,29	1,32 ± 0,38	1,88 ± 0,60*	1,26 ± 0,27	2,43 ± 0,34*
Тригліцериди, ммоль/л	1,60	2,94 ± 0,30	1,44 ± 0,56	2,38 ± 0,51*	1,33 ± 0,54	2,70 ± 0,71*

Примітка: * — вірогідні зміни показників пацієнтів із симптомами метаболічного синдрому порівняно з контролем ($p < 0,05$).

пацієнтів Полтавської області був таким: Ala/Ala — 4.41 %, Pro/Pro — 73,53 %, Pro/Ala — 22.05 %, що засвідчує перевагу генотипу Pro/Pro. Аналіз показників ліпідного обміну (табл. 3) показав, що пацієнти з алелями Ala/Ala мали підвищений вміст загального холестерину, холестерину ЛПВЩ та тригліцеридів порівняно з аналогічними показниками пацієнтів алелей Pro/Pro та Pro/Ala.

Високий розподіл алелей Pro/Pro, що відбувається частіше, ніж алеля Ala/Ala, в 16.6 раза, та втричі частіше, ніж Pro/Ala, характеризувався показниками ліпідного обміну, які наближалися до межі нормальних величин.

Отже, дане дослідження вказало, що число індивідумів з генотипом Pro/Pro було значно вищим у всієї популяції обстежених, і вони мали нормальні величини показників ліпідного обміну. Отже, найбільш несприятливим поліморфним варіантом є гомозигота Ala/Ala, менш виразні зміни у гетерозигот Pro/Ala.

У табл. 4 подані результати визначення показників ліпідного обміну в контрольних групах та у групах пацієнтів із симптомами МС із різними генотипами.

Аналіз даних показав, що пацієнти різних генотипів із симптомами МС мали підвищені показники ліпідного обміну порівняно зі здоровими пацієнтами.

Із даних, наведених у табл. 2, 4, випливає, що в контрольній групі пацієнтів (без гіперліпідемії) переважає генотип Pro/Pro, тоді як у пацієнтів із симптомами МС — Ala/Ala та Pro/Ala. Отже, наявність алеля Ala слід вважати несприятливим фактором, що може виступати предиктором розвитку МС та відображає тяжкість гіперліпідемії.

Серед численних регуляторів гомеостазу чільне місце посідають ядерні рецептори ППАР. ППАР є транскрипційними факторами, що активуються лігандами і належать до надродини ядерних рецепторів. Є дані, що Ala-поліморфізм ППАР- $\gamma 2$, залучений в ліганд, визначає транскрипційну активність цього рецептора [14, 15].

Можливість впливу на ППАР за допомогою низькомолекулярних лігандів та встановлення їх важливої ролі в розвитку МС, компонентами якого вважаються атерогенна дисліпідемія, артеріальна гіпертензія, ЦД, відкриває нові методи профілактики та лікування цих патологій.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів із дисліпідемією при метаболічному синдромі спостерігався підвищений рівень церулоплазміну, що може бути використаний як маркер запального процесу при цьому патологічному стані.

2. У здорових осіб (популяція пацієнтів Полтавської області) генотип Pro/Pro трапляється в 6 разів частіше, ніж в осіб із симптомами МС. Натомість у хворих із МС зростає частота виявлення алеля Ala.

3. Вивчення поширеності Pro/Ala поліморфізму гена ППАР- $\gamma 2$ в українській популяції з симптомами метаболічного синдрому є перспективним для прогнозування та вибору індивідуальних методів терапії.

Література

1. Оганов Р., Мамедов М., Колтунов Н. Метаболический синдром: путь от научной концепции до клинического диагноза // *Врач.* — 2007. — № 3. — С. 3-7.
2. Кайдашев І.П. Роль ППАР-гамма в регуляції алергічного запалення // *Проблеми екології та медицини.* — 2007. — № 1-2. — С. 25-28.
3. Метаболический синдром у мужчин в возрасте 35–65 лет сельского района Полтавской области и возможности профилактической терапии аторвастатином® // *И.П. Кайдашев, В.Н. Васильев, И.М. Горбась и др. Лікарська справа.* — 2006. — № 8. — С. 48-52.
4. Резанов А.С., Аракелянц А.А., Юренев А.П. Патогенез артериальной гипертензии в рамках метаболічного синдрому // *Кардіологія.* — 2000. — № 40 (3). — С. 64-68.
5. Чазова І.Е., Мышка В.Б. Метаболический синдром // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* — 2003. — № 3. — С. 32-36.
6. Расин М.С., Кайдашев И.П., Расин А.М. Полиморфизм пероксисом пролифератор-активирующих рецепторов: новый аспект патогенеза атеросклероза, эссенциальной гипертензии и сахарного диабета 2-го типа // *Український терапевтичний журнал.* — 2004. — № 4. — С. 57-62.
7. Роль ППАР- γ в патогенезі цукрового діабету, атеросклерозу та метаболічного синдрому // *І.П. Кайдашев, Л.В. Беркало, Л.О. Куценко та ін. Проблеми екології та медицини.* — 2007. — Т. 11, № 1-2. — С. 29-32.
8. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. — Мн.: Беларусь, 2000. — Т. 2. — 463 с.
9. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині // *Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. та ін.; Під ред. І.П. Кайдашева.* — Полтава: Полімет, 2003. — 320 с.
10. Malecki T.M., Fray J., Clupea T. The Pro12Ala polymorphism of PPAR $\gamma 2$ Gene and Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus in a Polish Population // *Diabetes Res.*

Clin. Practice. — 2003. — Vol. 62 (2). — P. 105-111.

11. Особливості структурно-функціонального стану артеріальних судин у хворих на гіпертонічну хворобу, поєднану з ішемічною хворобою серця / О.С. Чабанна, В.В. Медведєв, О.О. Свинтозельський, Ю.О. Перехрест // *Клінічна фармація.* — 2006. — Т. 10, № 1. — С. 17-19.

12. Скибчик В.А., Соломенчук Т.М. Порушення обміну тригліцеридів у хворих на гострий Q-інфаркт міокарда та ефективний спосіб їх корекції // *Кровообіг та гемостаз.* — 2006. — № 2. — С. 78-83.

13. Титов В.Н., Ощепкова Е.В., Дмитриев В.А. Эндогенное воспаление и биохимические аспекты патогенеза артериальной гипертензии // *Клиническая лабораторная диагностика.* — 2005. — № 5. — С. 3-10.

14. Frequency of Pro12Ala-Polymorphism of the Gene PPAR- γ 2 in the Ukrainian Population and Its Possible Relation to the Development of the Metabolic Syndrome / I.P. Kaydashev, A.M. Rasin, O.A. Shlykova et al. // *Cytology and genetics.* — 2007. — № 5. — С. 298-302.

15. Расин А.М., Кайдашев И.П., Расин М.С. Peroxisом пролифератор-активирующие рецепторы и их роль в системном воспалении, атерогенезе, артериальной гипертензии и хроническом обструктивном заболевании легких // *Украинский терапевтический журнал.* — 2006. — № 2. — С. 100-108. □

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ PRO12ALA ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PPAR- γ 2 В УКРАИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ С СИМПТОМАМИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

THE STUDYING OF PREVALENCE OF PRO12ALA POLYMORPHISM OF PPAR- γ 2 GENE IN THE UKRAINIAN POPULATION WITH SYMPTOMS OF THE METABOLIC SYNDROME

И.П. Кайдашев, Л.А. Куценко, О.А. Шлыкова, Л.В. Беркало, И.Л. Солохина

Центральная научно-исследовательская лаборатория, Высшее государственное учебное заведение «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

I.P. Kaydashev, L.A. Kutsenko, O.A. Shlykova, L.V. Berkalo, I.L. Solokhina
Central Research Laboratory, State Institution of High Education «Ukrainian Medical Stomatological Academy», Poltava, Ukraine

Резюме. В популяции пациентов Полтавской области с симптомами метаболического синдрома изучалась распространенность Pro12Ala полиморфизма гена PPAR- γ 2 с целью уточнения патогенетических механизмов заболеваний. Установлено, что у пациентов с дислипидемией наблюдался повышенный уровень церулоплазмину. У здоровых лиц генотип Pro/Pro встречается в 6 раз чаще, нежели у лиц с наличием метаболического синдрома. Наличие аллеля Ala можно считать прогностическим маркером развития метаболического синдрома. Изучение распространенности Pro/Ala полиморфизма гена PPAR- γ 2 в украинской популяции с наличием метаболического синдрома перспективно для прогнозирования и выбора индивидуальных методов терапии.

Summary. In the population of the patients from Poltava region with symptoms of the metabolic syndrome there was studied the prevalence of Pro12Ala polymorphism of PPAR- γ 2 gene with the purpose of researching of pathophysiological processes of diseases. Higher ceruloplasmin level has been found in the patients with dyslipidemia. The genotype Pro/Pro has been found in the control group more frequently by 6 times than in the persons with metabolic syndrome. Ala is a prognostic marker of metabolic syndrome development. Studies of the prevalence of Pro/Ala polymorphism of PPAR- γ 2 gene in the Ukrainian population with symptoms of the metabolic syndrome are necessary for prognosis and making a choice of individual therapy methods.

Ключевые слова: метаболический синдром, пероксисом пролифератор-активирующие рецепторы, полиморфизм.

Key words: metabolic syndrome, peroxisome proliferator-activated receptors, polymorphism.