

DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.3-4.2019.06>
УДК 616.735:577.112:577.115.3:616.36

ПОВЕДІНКОВІ ТА ГЕНЕТИЧНО ДЕТЕРМІНОВАНІ ВІДМІННОСТІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ, УСКЛАДНЕНИЙ РЕТИНОПАТІЄЮ ІЗ РІЗНИМ PPAR γ -ЗАЛЕЖНИМ ФЕНОТИПОМ

¹*Напрус Л.В.* (<https://orcid.org/0000-0003-1763-0618>)

²*Риков С.О.* (<http://orcid.org/0000-0002-3495-7471>)

²*Биховець М.Ю.* (<https://orcid.org/0000-0003-4013-2174>)

¹ *Науково-дослідний інститут експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Київ, Україна*

² *Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, Київ, Україна*
Lnatrus777@gmail.com

Актуальність. Проблема лікування та профілактики мікросудинних ускладнень на тлі гіперглікемії набагато глибша, ніж притримування відповідного харчового раціону. Необхідно враховувати як поведінкові особливості людини, так і генетично детерміновані механізми регуляції метаболізму.

Мета роботи: вивчити поведінкові та генетично детерміновані відмінності у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ретинопатією із різним PPAR γ -залежним фенотипом.

Матеріали та методи. Дослідження охоплювало 101 хворого із цукровим діабетом 2 типу (ЦД2), у яких за результатами офтальмологічного обстеження, за шкалою ETDRS, було виявлено різні стадії діабетичної ретинопатії (ДР). Контрольна група (КГ) включала 40 осіб без ЦД, які співставлені із пацієнтами за статтю, віком, індексом маси тіла. Поліморфізм гену визначали за допомогою ПЛР-реал тайм на автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500; спектр жирних кислот (ЖК) визначали за допомогою газово-рідинної хроматографії; поведінкові та харчові звички аналізували за результатами анкетування.

Результати. У пацієнтів з ЦД2 найбільш ефективним шляхом корекції гіперглікемії на усіх стадіях розвитку ускладнення виявилось вживання інсуліну в таблетованих формах, але більшу стабільність у досягненні цільового рівня глюкози крові виявлено у носіїв поліморфізму гену PPAR γ . За раціональністю харчування та способом життя (СЖ) носії дикого генотипу Pro12Pro не відрізнялися від КГ. Носіям алелі 12Aa було притаманно на початку захворювання нехтування харчовими рекомендаціями, але із прогресуванням ступеню мікросудинних ускладнень, свідомість у правильному харчуванні зростала вдвічі ($P < 0,05$). Їх СЖ був менш раціональним, ніж у носіїв дикого генотипу Pro12Pro, але тривалість ЦД2 і розвиток ускладнення у вигляді ДР в 2-3 рази ($P < 0,05$) знижувала прагнення до здорового СЖ.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, спосіб життя, харчування, гіперглікемія, поліморфізм гену.

Актуальність. Діабетична ретинопатія (ДР) – найпоширеніше ускладнення тривалого і погано контрольованого цукрового діабету – є причиною значної втрати зору і сліпоти у людей [1]. Цукровий діабет 2 типу (ЦД2) – це складне порушення обміну речовин, на яке страждає 20% населення в усьому світі, характеризується гіперглікемією, резистентністю до інсуліну, прогресуючою втратою функцій клітин протягом усього перебігу захворювання і пов'язано з цим дисліпідемією, гіпертонією та ожирінням. Спочатку діабет другого типу вважали розладом вуглеводного обміну. Пізніше увагу акцентували на порушенні обміну жирних кислот (ЖК), оскільки вільні жирні кислоти циркулюють у високій концентрації при ожирінні та сприяють зменшенню здатності інсуліну направляти глюкозу в її основну тканину-мішень – скелетну мускулатуру, що викликає інсулінорезистентність (ІР) [2].

Є дані про те, що ІР люди мають знижену експресію ядерного транскрипційного фактору (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR), що сприяє зменшенню кількості м'язових мітохондрій та дисбалансу типів м'язових волокон 1 та 2 типу, що потенційно знижує м'язову активність [3]. Відомо, що фізичні навантаження справляють позитивний вплив на рівень глікемії при ЦД2, який частково опосередковується загальним метаболічним та молекулярним ремоделюванням скелетних м'язів у відповідь на вправу, але дія багатьох регуляторів скелетних м'язів залишаються незрозумілими. Дослідники вивчали вплив «гострих» фізичних вправ на транскрипційну активність генів скелетних м'язів у щурів на тлі гіперглікемії [4]. Після навантаження була виявлена зміна експресії ряду протеїнів, в тому числі PPAR залежних, що призвело до посилення поглинання глюкози, покращення чутливості до

інсуліну і зменшення гіперглікемії у щурів [4]. PPAR- γ відіграє найважливішу роль у гомеостазі глюкози і є молекулярною мішенню класу інсуліночутливих препаратів, які широко застосовуються для лікування діабету 2 типу [5]. Активація PPAR- γ у інсулінорезистентних (IP) тварин або людей призводить до підвищення чутливості як печінки до інсуліну, так і поглинання глюкози скелетними м'язами [6]. Цей вплив *in vivo* на сигнали інсуліну пояснюється комбінованою дією лігандів PPAR- γ на жирову тканину та на печінку та скелетну мускулатуру, хоча тонкі механізми, що лежать в основі інсуліночутливої дії агоністів PPAR- γ , є складними і не повністю зрозумілими.

Окрім свого впливу на вуглеводний обмін, ліганди PPAR- γ також сприятливо впливають на ліпіди плазми. PPAR- γ експресується в жировій тканині і є центральним регулятором експресії та диференціювання генів адипоцитів. Останнім часом інтенсивно досліджується вплив поліморфізмів гену PPAR на фенотипічні ознаки енергетичного метаболізму. Так, часткова «втрата функції» гену – мутація Pro12Ala, специфічна для PPAR γ 2, пов'язана зі зниженням індексу маси тіла (ІМТ), поліпшенням ліпідного профілю та чутливості до інсуліну [7]. Навпаки, мутація Pro115Gln робить PPAR γ конститутивно активною, носії цієї мутації страждають ожирінням, але залишаються чутливими до інсуліну [8].

Епідеміологічний зв'язок між ожирінням та резистентністю до інсуліну добре встановлений, хоча механізми ЖК-індукованої IP продовжують вивчатися. Розвиток ожиріння пов'язано з екологічними, поведінковими та генетичними факторами. Хоча зміни способу життя є ефективними у запобіганні як діабету, так і ожиріння, досягнення суттєвої зміни способу життя у людей виявляються складними [9]. Сучасні рекомендації вказують на те, що, вже для пацієнтів з ІМТ ≥ 30 кг/м² або ІМТ від 27 до 30 кг/м², крім немедикаментозних методів, повинна призначатися медикаментозна терапія [10].

Склад харчування може відігравати важливу роль у підвищенні чутливості до інсуліну, зниженні ризику діабету та його ускладнень [11]. Ми щоденно вживаємо різні ЖК, після надходження в складі харчових продуктів, вони потрапляють в плазму, а потім вбудовуються в структуру тканинних ліпідів. Таким чином, вміст ЖК в продуктах харчування в значній мірі визначає відносну доступність і зберігання ЖК в тканинах [12].

Взагалі при інтерпретації даних щодо зв'язку між особливістю харчування в раціоні та переддіабетом треба враховувати інтерференцію кількох факторів: зміни дієти внаслідок ожиріння, неможливість провести детальні коригування для ожиріння, фізичну активність тощо. Незважаючи на значну кількість досліджень, ряд позицій носять суперечливий вигляд. Вірогідно, не існує універсальної

дієтичної стратегії запобігання діабету, оскільки проблема виникнення мікросудинних ускладнень на тлі гіперглікемії набагато глибша, ніж притримування відповідного харчового раціону, вона включає як поведінкові особливості людини, так і генетично детерміновані механізми метаболізму.

Мета роботи: вивчити поведінкові та генетично детерміновані відмінності у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ретинопатією із різним PPAR γ -залежним фенотипом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження включало 101 хворого (101 око) із ЦД2, у яких за результатами офтальмологічного обстеження виявлено різні стадії ДР.

Усім хворим були виконані загальноприйняті офтальмологічні обстеження: візометрія, рефрактометрія, статична периметрія Humphrey, тонометрія, біомікроскопія, при необхідності – гоніоскопія, офтальмоскопія лінзою Goldman, оптична когерентна томографія на OCT Triton у режимі macula. Обстеження сітківки проводились фундус-камерою з фотографуванням очного дна у 7 перехресних полях згідно з протоколом Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS). Флюоресцентну ангіографію виконували за показаннями.

Стадії ДР визначали за шкалою ETDRS, що надало нам змогу визначити 3 групи спостереження, які відрізнялися ступенем ушкодження сітківки. ДР-1 – група (30 хворих, 30 очей), в яку включили пацієнтів із початковою, помірною та тяжкою непроліферативною ДР. ДР-2 – група (34 хворих, 34 ока), яку склали пацієнти із початковою, помірною та тяжкою (високого ризику) проліферативною ДР. ДР-3 – група (37 хворих, 37 очей), яку склали пацієнти із прогресуючою проліферативною ДР. У всіх пацієнтів був досліджений рівень гормонів щитоподібної залози для виключення наявності гормональних порушень. Контрольну групу (КГ) 40 осіб без ЦД становили пацієнти, які не мали діагностованих порушень метаболізму і звернулися з метою профілактичного огляду в лабораторію клінічної лабораторної діагностики НМУ імені О.О. Богомольця. Усі біохімічні методики, молекулярно-генетичні дослідження та газово-рідинну хроматографію виконували в атестованих лабораторіях Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця за стандартними методиками. Вимірювання проводили на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі BS-3000M виробництва «Sinnova», (Китай), із використанням біохімічних наборів «Diagnosisum Zrt», (Угорщина). Вміст L-FABP визначали в сироватці крові методом ELISA Human L-FABP «Hycult Biotech». Дослідження складу ЖК в мембранах еритроцитів проводили стандартним методом газо-

во-рідинної хроматографії після виділення еритроцитарної маси із венозної крові. Для вивчення особливостей харчування нами була розроблена анкета, на питання якої пропонували відповісти всім досліджуваним особам. Під час складання переліку питань анкети та варіантів відповідей була врахована ідея піраміди харчування, розроблена Уолтером Вілетом у Гарвардській школі громадського харчування, в основі якої підкреслена роль фізичної активності, достатнє споживання рідини, переважно у вигляді мінеральної води та щоденного вживання овочів і фруктів.

Для молекулярно-генетичного дослідження була використана венозна кров, забір проводили в стерильних умовах у вакуумні пробірки з EDTA. Для виділення геномної ДНК використовували набори PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA, виробник INVITROGEN (США). Інкубацію проводили з Digestion Buffer та протеїназою K і шляхом центрифугування позбавлялися від продуктів денатурації та лізису, з метою попередження контамінації додатково інкубували з РНК-азою. Для аналізу поліморфних ДНК-локусів використовували уніфіковані тест-системи TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США). Локалізація досліджуваного поліморфізму rs1801282 гену PPARG Chr.3:12393125 за NCBI Build 37. Сіквенс ділянки що аналізується – AACTCTGGGA GATTCTCCTATTGAC[C/G]CAGAAAGCGA TTCCTTCACTGATAC, поліморфний кодон CCA/GCA. Такий поліморфізм представляє собою просту нуклеотидну заміну С на G, що призведе до заміни амінокислоти пролін на аланін у 12 положенні білка гамма-рецептору, який активує проліферацію пероксисом (PPARG). Аallel С вважається «дикого» алелю, а алель G мінорною, за даними MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org/node/506>), частота зустрічаємості цієї алелі складає $T=0,0703/352$. Інкубацію досліджуваного матеріалу з системою праймерів, які фланкують ділянки ДНК генів, що аналізуються, в присутності ДНК-полімерази в автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500 (Applied Biosystems, США). За допомогою синхронізованої з ампліфікатором програми RealTime_PCR обробляли одержані з ампліфікатора дані.

Статистичний аналіз даних виконувалася за допомогою пакету IBM SPSS Statistics 23 та програми MedStat. Перевірку розподілу кількісних показників по всій вибірці даних на відповідність закону Гауса за допомогою одновибірочного критерію Шапиро-Уилка. Більшість параметрів не відображали нормальний розподіл, тому використовували непараметричні критерії. Для опису даних в

групах наводили значення медіани (Me) та процентілей 25-й (P_{25}) та 75-й (P_{75}), які визначали в таблицях [Q1чQ3]. Для інтервальної оцінки медіани розраховували 95% довірчий інтервал. Діаграми надавали у вигляді стовпчиків із вказанням (ДІ 95%). Дані у групах порівнювали за допомогою рангового однофакторного аналізу за критерієм Крускала-Уолліса, для попарного порівняння використовували критерій Данна або Манна-Уїтні з урахуванням поправки Бонфероні. Відмінності в групах вказували у вигляді P із вказанням рівня значущості. Вважали, що дані відрізняються за $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За нашими даними, в КГ носіями алелі 12Ala були 18 осіб (45%), з них 3 (7,5%) – носії гомозиготи. Серед хворих на ЦД2 носіїв алелі 12Ala було 33 особи (33%), із них лише у 1 (1%) виявлена мінорна гомозигота. Такий розподіл співпадає із даними інших дослідників [13,14], які показали, що в українській популяції пацієнти із метаболічними розладами мають переважно дикий генотип Pro12Pro. Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів гену PPARG в групах пацієнтів із різною стадією ДР (рис. 1) також показав зменшення носіїв поліморфізму гену в ДР-1 та ДР-2 відносно КГ, але достовірна різниця виявлена лише між КГ та ДР-3.

Аналіз факторів, які можуть впливати на розвиток ЦД2 і прогресування ДР (гендерний склад груп, вік, маса, індекс маси тіла (ІМТ) хворих із ЦД2 та їх однолітків без діабету) не виявив достовірних відмінностей. Виявлена кореляція ($r=0,401$, $P<0,01$) тяжкості ДР за показником шкали ETDRS та тривалістю діабету. В КГ ми також виявили високий ІМТ, але ми навмисно не прийняли критерієм виключення $ІМТ \geq 25$ кг/м² для більш достовірного порівняння впливів на метаболічний стан осіб за віком, видом діяльності та способом життя. За ІМТ

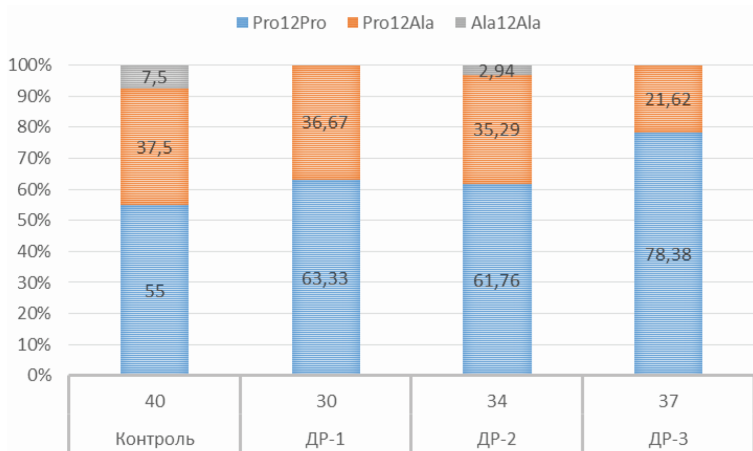


Рис. 1. Розподіл частоти зустрічаємості генотипів гену PPARG в групах пацієнтів із різною стадією ДР

не виявлено очікуваної суттєвої відмінності у хворих із різною стадією ДР у бік зростання тривалості і тяжкості ЦД2 та ожиріння, навпаки, найбільший показник ми спостерігали в ДР-1 29,3 кг/м² [37,2-32,3] із поступовим зменшенням.

Усі хворі на ЦД2, ускладнений ДР, отримували лікування для компенсації гіперглікемії у вигляді відповідно розрахованої дози інсуліну, який пацієнти отримували у вигляді ін'єкцій або таблетованої форми. Як видно з діаграми (рис. 2-А), більш стійкий рівень компенсації ЦД2 (за даними глікованого гемоглобіну) був притаманний носіям алелі 12А1а, а у носіїв дикого генотипу в плазмі виявлені суттєві коливання глюкози, серед них в групі ДР-2 рівень HbA1C був в 1,7 рази більшим (P<0,05), ніж у пацієнтів із поліморфізмом гену.

За нашими даними, більш ефективною формою зниження рівня глюкози плазми виявилось вживання таблеток, ніж ін'єкції, особливо на початку розвитку захворювання, хоча достовірної різниці не виявлено (рис. 2-Б).

Оцінка ліпідного обміну, за показником загального холестерину, у досліджуваних групах не виявила суттєвої різниці показника у пацієнтів із різним PPAR γ -залежним фенотипом. Найбільшу різницю виявили в групі ДР-2, де у носіїв дикого генотипу холестерин був вищим у 1,2 рази, ніж у носіїв поліморфізму.

За даними опитування та медичної документації, пацієнтам були призначені препарати (статини). Прийом препаратів у всіх пацієнтів, незалежно від фенотипу (рис. 3-Б), успішно поліпшував гіперхолестеринемію.

Одним із інформативних підходів оцінки ліпідного статусу організму є оцінка жирнокислотного складу еритроцитарних мембран. В наших попе-

редніх роботах, ми провели ретельний аналіз 9 найінформативніших ЖК в групах і виявили суттєву розбіжність вмісту ЖК в мембранах клітин, як важливого енергетичного субстрату організму. Головною особливістю у носіїв дикого генотипу було різке підвищення в 1,4 рази (P<0,05) відносно КГ вмісту арахідонової ЖК на початку розвитку ДР, а із прогресуванням ДР її вміст зменшувався в 7,5 разів (P<0,05). У носіїв алелі 12А1а вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був в 2 рази меншим, ніж в КГ (P<0,05), і поступово зменшувався із прогресуванням ДР.

Традиційно при аналізі ЖК порівнюють співвідношення НЖК до ННЖК, оскільки його завищення є ознакою патологічного процесу, а накопичення насичених ЖК в клітині, особливо в мембрані, суттєво змінює її властивості, пластичність, спроможність до ендцитозу, реактивності до ацепції ліганду, латерального пересування рецепторних рафтів та інтегральних протеїнів, що зменшує відповідь на цитокіни та загальну міжклітинну взаємодію [15, 16].

Також інформативним підходом до аналізу ліпідного метаболізму є порівняння співвідношення вмісту арахідонової ЖК до лінолевої, оскільки перетворення С18:2 у С20:4 є важливим біологічним процесом. Метаболіти арахідонової кислоти – це міриади біологічно активних сполук, таких як ейкозаноїди, простагландини і лейкотрієни, ендогенні ліганди канабіноїдних рецепторів, які є важливими міжклітинними регуляторами, але при надлишковому виділенні вони сприяють ряду хронічних захворювань. Організм людини може самостійно синтезувати арахідонову ЖК з незамінної омега-6-ненасиченої лінолевої кислоти, але лише з її природної цис-форми. Якщо в організмі підвищений вміст С 18:2 у

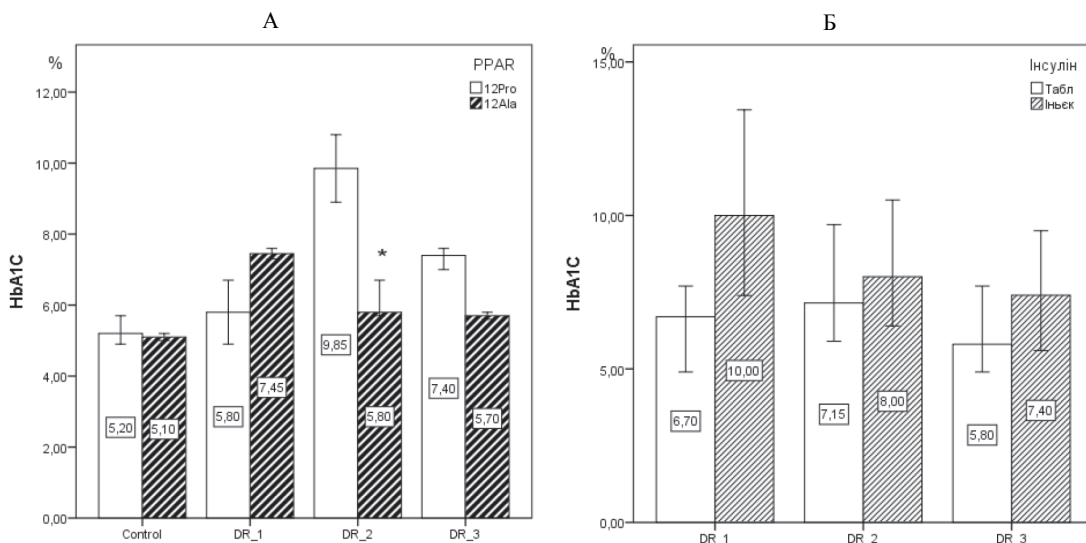


Рис. 2. Рівень глікованого гемоглобіну в досліджених групах в залежності: А – від генотипу PPAR γ (світлі стовпчики – носії генотипу Pro12Pro, темні – носії алелі 12А1а); Б – від форми отримання лікувальної дози інсуліну (світлі стовпчики – таблетки, темні – ін'єкції); * – відмінність в групі на рівні P<0,05

вигляді синтетичної форми транс-жирів, то ліолева ЖК «застряє» і витрачає спроможність переходити в арахідонову, і визначається підвищення С 18:2.

За нашими даними, виявлене у хворих на ЦД2 стійке переважання вмісту насичених ЖК в складі мембран еритроцитів (рис. 4-А) було притаманне носіям алелі 12Ala, у яких цей показник був більшим, ніж в КГ, особливо він відрізнявся в 2,5 рази в ДР-1 та в 2,3 рази в ДР-2, хоча з прогресуванням ДР спостерігалось поступове зменшення «насиченості» мембран.

У носіїв генотипу Pro12Pro показник мав суттєву розбіжність, як в групах, так і між групами, а в ДР-2 показав критичне зменшення відношення НЖК/ННЖК. Співвідношення 18:2/20:4 дивно відрізня-

лось у носіїв різних генотипів (рис. 4-Б). Так, у хворих на ЦД2 носіїв дикого генотипу цей показник був однаковим із КГ, із підвищеним в 2 рази лише в групі ДР-3. А серед носіїв дикого генотипу спостерігалось початкове зниження в групі ДР-1 в 2 рази відносно КГ і поступове підвищення в групі ДР-3, практично в 3 рази ($P < 0,05$).

Оцінка поведінкової складової, яка може впливати на стан ліпідного та вуглеводного обміну, проводилася за даними анкетування і подальшого розрахунку індексів. Для аналізу складу їжі ми розробили питання, що були присвячені вживанню у звичайному раціоні харчових продуктів та їх частоти. Кожний вид продуктів був обраний із урахуванням джерела ЖК, яким він є. Заповнювачеві анкети необхідно

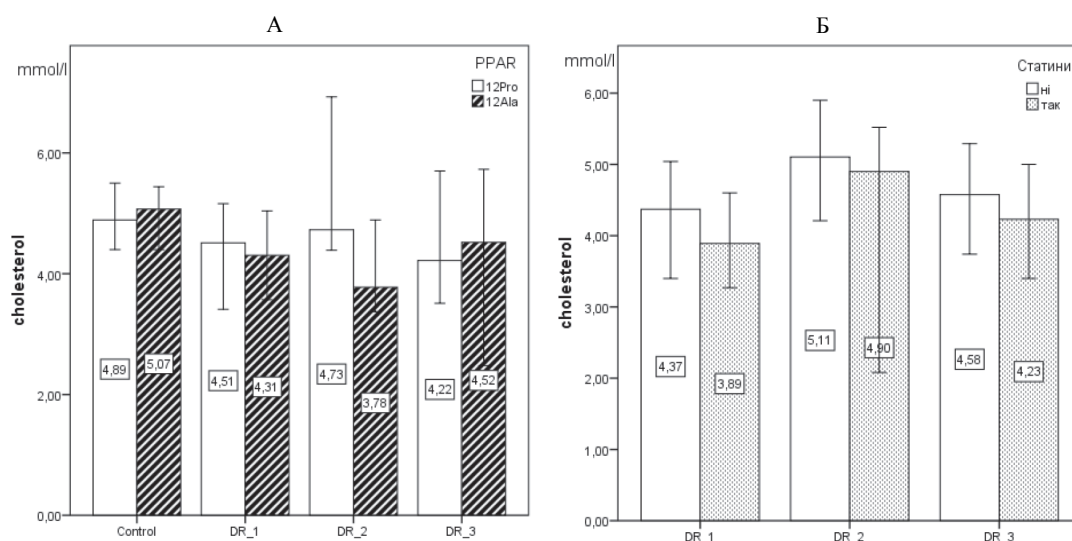


Рис. 3. Рівень загального холестерину плазми в досліджених групах в залежності: А – від генотипу PPARG (світлі стовпчики – носії генотипу Pro12Pro, темні – носії алелі 12Ala); Б – від прийому статинів (світлі стовпчики – не приймали, темні – приймали)

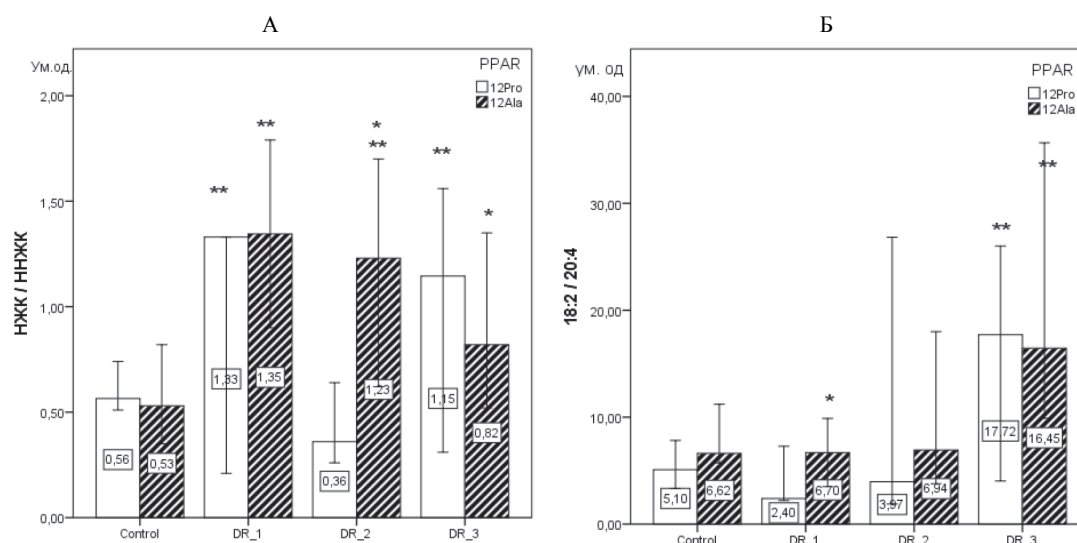


Рис. 4. Порівняння співвідношення НЖК/ННЖК (А) та С18:2/С20:4 (Б) в мембранах еритроцитів пацієнтів досліджених груп в залежності від генотипу PPARG (світлі стовпчики – носії генотипу Pro12Pro, темні – носії алелі 12Ala); * – відмінність в групі ($P < 0,05$); ** – відмінність із відповідним показником КГ ($P < 0,05$).

було вказати частоту вживання вказаних продуктів при звичайному раціоні, наприклад, за останні 2 місяці. Відповіді, згідно із всесвітніми авторитетними рекомендаціями та школами дієтології, ранжували у вигляді шкали: А – рекомендовано, Б – припустимо, В – не бажано, Г – не рекомендовано, Д – вкрай не рекомендовано. Далі, для кількісної оцінки результатів, варіантам відповідей призначали бали від 1 до 5, де А – «5», а Д – «1». Таким чином, кожний пацієнт отримував кількісний бал, залежно від того, наскільки раціонально, з погляду рекомендацій харчування, він вживає різні продукти із вмістом ЖК. Сума балів визначалася як показник «раціональності вживання ЖК» в умовних одиницях у кожного пацієнта, а потім і середній у групі. Такий аналіз надав нам можливість кількісно проаналізувати у групах особливості раціону усіх досліджуваних осіб із визначенням вживання різних видів ЖК (рис. 4).

За отриманими даними (рис. 5-А), у носіїв дикого генотипу раціональність вживання їжі не відрізнялася в КГ та у хворих на ЦД2. Серед носіїв алелі 12Ala цей показник відрізнявся від КГ та в залежності від стадії ДР. В групі ДР-1 був найнижчим, а із розвитком ДР підвищувався і в ДР-3 був більшим в 2 рази ($P < 0,05$). Така динаміка відображує, що із перебігом ЦД2 та розвитком ускладнень, пацієнти підвищують свою свідомість притримуватися рекомендацій харчування. Найбільш цікавим, з нашої точки зору, є факт, що таке прагнення виявилось лише у хворих носіїв поліморфізму гену PPAR.

В нашій попередній роботі [17] ми проводили аналіз показників способу життя (СЖ): дотримання дієти, фізичного навантаження, вживання води, фруктів та овочів у пацієнтів із ЦД2 і осіб, які з

ними співставні за основними фенотипічними ознаками, проведений на основі анкетування відповідно всесвітніх рекомендацій здорового харчування та нутрицевтичних досліджень. Ми дійшли висновку, що звичка до додаткового фізичного навантаження і вживання 1,5-2 л води достовірно вище у осіб без ЦД. Недостатнє вживання фруктів та овочів в щоденному раціоні харчування знаходиться в прямій залежності із захворюванням на ЦД, із його ускладненням у вигляді прогресування ДР.

Із метою порівняння результатів анкетування про спосіб життя в різних групах пацієнтів були розраховані індекси, які використовувалися як інтегральні кількісні критерії. В даній роботі наведений коефіцієнт «раціональності СЖ», який розраховували як відношення суми відповідей А+Б до В+Г+Д, і його зростання відображувало найбільш раціональні звички. Аналіз коефіцієнта в групах показав (рис. 5-Б), що у носіїв дикого генотипу СЖ не відрізнявся у пацієнтів на ЦД2, як у порівнянні із КГ, так і в залежності від розвитку ДР. У носіїв поліморфізму коефіцієнт раціональності СЖ був взагалі нижчим, ніж у носіїв дикого поліморфізму, а в групі ДР-1 та ДР-3 достовірно відрізнявся у 3,7 та 1,8 рази ($P < 0,05$), відповідно. Таким чином, ми виявили відмінність в харчовому раціоні та поведінкових звичках у пацієнтів з ЦД2 із різною стадією ДР і різним PPAR-залежним фенотипом.

Жирова тканина відіграє вирішальну роль у регуляції прийому їжі, оскільки вона виділяє ряд ендокринних та паракринних медіаторів, включаючи лептин, адипонектин, резистин та TNF- β , які впливають на апетит [18]. Розуміння складної системи сигналіngu, що лежить в основі контролю апетиту, ймовірно, запропонує нові підходи до стратегій лікування. Здатність агоністів PPAR індукувати

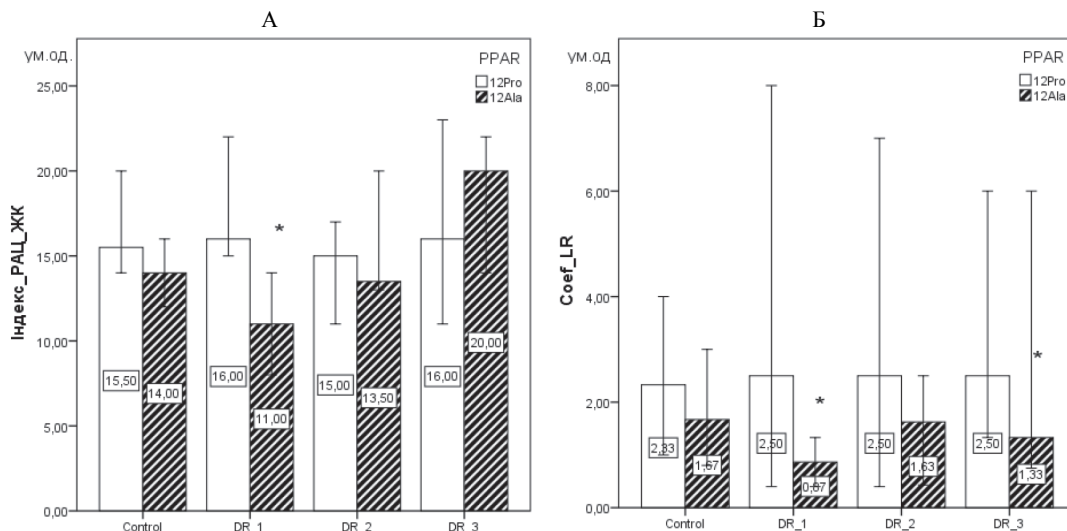


Рис. 5. Порівняння показника «раціональності вживання ЖК» (А) та коефіцієнта раціональності способу життя (Б) в досліджених групах в залежності від генотипу PPAR (світлі стовпчики – носії генотипу Pro12Pro, темні – носії алелі 12Ala); * – відмінність в групі на рівні $P < 0,05$.

адаптивний термогенез та захищати як від аліментарного, так і генетично детермінованого ожиріння на тваринних моделях свідчить про те, що PPAR-залишається перспективною мішенню в лікуванні ожиріння.

Дослідження асоціації захворювань, пов'язані з геномом, проведені в великих когортах, значною мірою сприяли відкриттю нових генетичних локусів діабету 2 типу та інших метаболічних особливостей, хоча виявлені загальні варіанти пояснюють лише невелику частку загальної схильності до діабету [19]. З нашої точки зору, найбільш ефективним шляхом розробки харчових та поведінкових рекомендацій для запобігання розвитку ЦД2, або прогресування його ускладнень є вивчення фенотипічних особливостей пацієнтів, які віддзеркалюють відмінності генетично детермінованих механізмів регуляції обміну речовин.

Наявність відмінностей поведінкового характеру у осіб із різним PPARG-залежним фенотипом може бути пояснена генетично детермінованими особливостями регуляції обміну речовин, схильності до вживання деяких продуктів, відмінністю регуляторних впливів на жирову тканину, механізмів забезпечення енергетичним субстратом печінки та скелетної мускулатури. Вказані фактори можуть впливати на особливості поведінки хворих, їх адаптацію до лікування і схем корекції. Ці особливості необхідно враховувати для розробки ефективних схем лікування не тільки в групах із різним ступенем ушкодження сітківки та тривалістю ЦД2, а також в залежності від поліморфізмів генів ключових ферментів жирового та вуглеводного обміну і забезпечують зв'язок між факторами зовнішньої середовища та внутрішніми механізмами регуляції енергетичного гомеостазу.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів з ЦД2 найбільш ефективним шляхом корекції гіперглікемії на усіх стадіях розвитку ДР виявилось вживання інсуліну в таблетованих формах, але найбільшу стабільність у досягненні цільового рівня глюкози крові виявлено у носіїв поліморфізму гену PPARG.

2. Не виявлено достовірної розбіжності показників ліпидограми у осіб із різним PPARG-залежним фенотипом, але у хворих на ЦД2 носіїв алелі 12A1a виявлене на початку захворювання переважання в 2,3-2,5 рази ($P < 0,05$) вмісту насичених ЖК в складі мембран еритроцитів, і незначне поступове зменшення «насиченості» мембран з прогресуванням ДР.

3. Носії дикого генотипу Pro12Pro не відрізнялися від КГ за раціональністю харчування та СЖ, як с початку захворювання на ЦД, так із прогресуванням ДР. Носіям алелі 12A1a було притаманно на початку захворювання нехтування харчовими реко-

мендаціями, а із прогресуванням ступеню мікросудинних ускладнень, свідомість у правильному харчуванні зростала вдвічі ($P < 0,05$). У осіб із PPARG поліморфізмом СЖ був менш раціональним, ніж у носіїв дикого генотипу Pro12Pro. Наявність ЦД2 і розвиток ускладнення у вигляді ДР знижувала прагнення до здорового СЖ в 2-3 рази ($P < 0,05$).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Робота виконана, як фрагмент Держбюджетної НДР «Вивчити значення генетичних чинників та зовнішніх впливів у розвитку і прогресуванні мікроциркуляторних ускладнень при цукровому діабеті 2 типу» № держреєстрації 0118U001214, строки виконання 2018-2020 р.р.

REFERENCES

1. Balashevich L.I., Izmaylov A.S. Diabetic ophthalmopathy / St. Petersburg: Chelovek, 2012. 396 p. [in Russia]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=21066959>
2. Boden G., Laakso M. Lipids and Glucose in Type 2 Diabetes. What is the cause and effect? // *Diabetes Care* 2004; 27 (9): 2253-9. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.9.2253>
3. Lin J., Wu H., Tarr P.T., et al. Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres // *Nature*. 2002; 418 (6899): 797-801. <https://doi.org/10.1038/nature00904>
4. Fu S., Meng Y., Zhang W. et al. Transcriptomic Responses of Skeletal Muscle to Acute Exercise in Diabetic Goto-Kakizaki Rats // *Front Physiol*. 2019; 10: 872. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00872>
5. Grimaldi PA. Peroxisome proliferator-activated receptors as sensors of fatty acids and derivatives // *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64 (19-20): 2459-64. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7278-5>
6. Zierath JR, Ryder JW, Doebber T, et al. Role of skeletal muscle in thiazolidinedione insulin sensitizer (PPARgamma agonist) action // *Endocrinology*. 1998; 139: 5034-41. <https://doi.org/10.1210/endo.139.12.6364>
7. Deeb S.S., Fajas L., Nemoto M. et al., A Pro12Ala substitution in the human PPAR α 2 is associated with decreased receptor activity, improved insulin sensitivity, and lowered body mass index // *Nat Genet*. 1998. 20: 284-7 <https://doi.org/10.1038/3099>
8. Hu E., Kim J.B., Sarraf P., Spiegelman B.M. Inhibition of adipogenesis through MAP-kinase mediated phosphorylation of PPAR α // *Science*. 1996; 274: 2100-3. <https://doi.org/10.1126/science.274.5295.2100>
9. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, et al., Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1343-50. <https://doi.org/10.1056/NEJM200105033441801>
10. Blaschke F, Takata Y, Caglayan E, et al. Obesity, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor, and

- Atherosclerosis in Type 2 Diabetes // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2006; 26: 28-40. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000191663.12164.77>
11. Mann J.I. Nutrition recommendations for the treatment and prevention of type 2 diabetes and the metabolic syndrome: an evidenced-based review // *Nutr. Rev.* 2006; 64 (9): 422-7. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2006.tb00227.x>
 12. Risyus U., Willett W.C., Hu F.B. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes // *Prog Lipid Res.* 2009; 48 (1): 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2008.10.002>
 13. Kaydashev I.P., Rasin A.M., Shlykova O.A. et al. Frequency Pro12Ala PPAR γ 2 gene polymorphism in Ukrainian population and its possible link to development metabolic syndrome // *Tsitologiya i genetika*. 2007; 5: 43-7. [in Russia] <http://cytgen.com/articles/4150043a.pdf>
 14. Ziblytsev S.V., Mokrii V.Y. Association between allele 12Pro of rs1801282 polymorphism gene PPAR and diabetes mellitus type 2 // *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*. 2016; 3 (55): 34-8. [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.24026/1818-1384.3\(55\).2016.77483](https://doi.org/10.24026/1818-1384.3(55).2016.77483)
 15. Weijers Rob N.M. Lipid Composition of Cell Membranes and Its Relevance in Type 2 Diabetes Mellitus // *Curr Diabetes Rev.* 2012; 8 (5): 390-400. <https://doi.org/10.2174/157339912802083531>
 16. Hussein J.S. Cell membrane fatty acids and health // *Int. J. Pharm. Sci.* 2013; 5 (Suppl. 3): 38-46. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol5Suppl3/7389.pdf>
 17. Rykov S.O., Bykhovets M.Y., Natrus L.V. Features of the lifestyle as a factor of the risk of development and progression of diabetic retinopathy in patients with diabetes mellitus of 2 types // *Archive of Ophthalmology of Ukraine*. 2019; 7 (1): 54-61. <https://doi.org/10.22141/2309-8147.7.1.2019.163000>
 18. Salas-Salvadó J., Martínez-González M.A., Bulló M., Ros E. The role of diet in the prevention of type 2 diabetes // *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011; 21 (Suppl 2): B32-48. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.03.009>
 19. Korat A., Willett W.C., Hu F.B. Diet, lifestyle, and genetic risk factors for type 2 diabetes: a review from the Nurses' Health Study, Nurses' Health Study 2, and Health Professionals' Follow-up Study // *Nutr Rep.* 2014; 3 (4): 345-54. <https://doi.org/10.1007/s13668-014-0103-5>.

Отримано: 15.10.2019

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫЕ ОТЛИЧИЯ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА, ОСЛОЖНЁННЫМ РЕТИНОПАТИЕЙ С РАЗНЫМ PPAR γ -ЗАВИСИМЫМ ФЕНОТИПОМ

¹Натрус Л.В., ²Рыков С.А., ²Биховець М.Ю.

¹ Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Национального медицинского университета имени А. А. Богомольца, Киев, Украина.

²Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина
Lnatrus777@gmail.com

Актуальность. Проблема лечения и профилактики микрососудистых осложнений на фоне гипергликемии гораздо обширнее, чем соблюдение соответствующей диеты. Необходимо учитывать, как поведенческие особенности человека, так и генетически детерминированные механизмы регуляции метаболизма.

Цель работы: изучить поведенческие и генетически детерминированные различия у больных с сахарным диабетом 2 типа, осложненным ретинопатией с различным PPAR γ -зависимым фенотипом.

Материалы и методы. Исследование включало 101 больного с сахарным диабетом 2 типа (СД2), у которых по результатам офтальмологического обследования были выявлены различные стадии диабетической ретинопатии (ДР) по шкале ETDRS. Контрольная группа (КГ) включала 40 человек без СД, сопоставимых с пациентами по полу, возрасту, индексу массы тела. Полиморфизм гена определяли с помощью ПЦП-реал тайм на автоматическом амплификаторе Gene Amp® PCR System 7500, спектр жирных кислот (ЖК) определяли с помощью газо-жидкостной хроматографии, поведенческие и пищевые привычки анализировали по результатам анкетирования.

Результаты. У пациентов с СД2 наиболее эффективным путем коррекции гипергликемии на всех стадиях развития осложнений оказалось употребление инсулина в таблетированных формах, но большую стабильность в достижении целевого уровня глюкозы крови имели носители полиморфизма гена PPAR γ . По рациональности питания и образу жизни (ОЖ) носители дикого генотипа Pro12Pro не отличались от КГ. Носителям аллели 12Ala было характерно в начале заболевания пренебрежение пищевыми рекомендациями, но с прогрессированием степени микрососудистых осложнений, сознательность в необходимости правильного питания возрастала вдвое ($P < 0,05$). Их ОЖ изначально был менее рациональным, чем у носителей дикого генотипа Pro12Pro, но течение СД2 и развитие осложнения в виде ДР в 2-3 раза ($P < 0,05$) снижало стремление к здоровому ОЖ.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, образ жизни, питание, гипергликемия, полиморфизм гена

**BEHAVIORAL AND GENETICALLY DETERMINED DIFFERENCES IN PATIENTS WITH TYPE 2
DIABETES MELLITUS COMPLICATED BY RETINOPATHY WITH DIFFERENT
PPARG-DEPENDENT PHENOTYPE**

¹*Natrus L.V., ²Rykov S.A., ²Bykhovets M.Y.*

¹*Bogomolets National Medical University Kyev, Ukraine*

²*Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyev, Ukraine*

Lnatrus777@gmail.com

Relevance. The problem of treatment and prevention of microvascular complications against the background of hyperglycemia is much broader than adherence to an appropriate diet. It is necessary to take into account both the behavioral characteristics of a person and the genetically determined mechanisms of metabolic regulation.

Objective to study the behavioral and genetically determined differences in patients with type 2 diabetes mellitus complicated by retinopathy with different PPARG-dependent phenotype.

Materials and methods. The study included 101 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), who, according to the results of an ophthalmological examination, revealed various stages of diabetic retinopathy (DR) according to the ETDRS scale. The control group (CG) included 40 people without diabetes, comparable to patients by gender, age, and body mass index. Gene polymorphism was determined using real-time PCR on an automatic amplifier Gene Amp® PCR System 7500, the fatty acid spectrum (FA) was determined using gas-liquid chromatography, and behavioral and nutritional habits were analyzed according to the results of a questionnaire.

Results. In patients with type 2 diabetes, the most effective way to correct hyperglycemia at all stages of development of complications was the use of insulin in tablet forms. Carriers of the PPARG gene polymorphism had greater stability in achieving the target blood glucose level. The carriers of the wild genotype Pro12Pro did not differ from the CG in the rationality of nutrition and lifestyle. Carriers of the 12Ala allele were characterized by a neglect of food recommendations at the beginning of the disease, but with the progression of the degree of microvascular complications, the awareness of the need for proper nutrition doubled ($P < 0.05$). Their lifestyle was initially less rational than that of carriers of the wild genotype Pro12Pro, but the course of T2DM and the development of complications in the form of DR by 2–3 times ($P < 0.05$) reduced the desire for a healthy lifestyle.

Keywords: diabetic retinopathy, lifestyle, nutrition, hyperglycemia, gene polymorphism