

ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ –308 G/A ГЕНА ФАКТОРУ НЕКРОЗУ ПУХЛИН- α (*TNF*) У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ ЗА УМОВ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ*

Тижненко Т. В.¹, Горшунська М. Ю.², Черняєва А. О.¹, Кравчун Н. О.¹, Караченцев Ю. І.^{1,2}, Атраментова Л. О.¹, Лещенко Ж. А.¹, Гладких О. І.¹, Красова Н. С.¹, Почерняєв А. К.¹, Опалейко Ю. А.¹, Плохотніченко О. О.¹, Чернявська І. В.¹, Полтораєв В. В.¹

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

²Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра ендокринології і дитячої ендокринології, м. Харків, Україна

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АЛТ — аланінамінотрансфераза
АСТ — аспаргатамінотрансфераза
НАЖХП — неалкогольна жирова хвороба печінки
ЦД2 — цукровий діабет 2 типу

ССЗ — серцево-судинні захворювання
НАЖХП — неалкогольна жирова хвороба печінки
OR — Odds Ratio
TNF- α — tumor necrosis factor-alpha (фактор некрозу пухлин- α)
IP — інсулінорезистентність

Відомо, що жирова тканина являє собою не тільки інертну тканину для зберігання енергії, але також активний ендокринний орган [1], який синтезує багато видів адипокінів, таких як адипонектин, лептин, фактор некрозу пухлин- α (tumor necrosis factor-alpha, *TNF- α*) тощо. Деякі адипокіни беруть участь у розвитку інсулінорезистентності (IP), яка є важливою сполучною ланкою між патологічними станами, такими як метаболічні дисфункції, у тому числі ожиріння, цукровий діабет (ЦД) і серцево-судинні захворювання (ССЗ) [1].

Доведено, що хімічні сигнали з білої жирової тканини безпосередньо пов'язані з IP

та запаленням, тому очікується, що циркуляторні рівні адипокінів можуть бути корисними в якості біомаркерів для оцінки ризику і інших патологічних станів, асоційованих з ожирінням [2], наприклад, таких як неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП).

НАЖХП (термін, який був запропонований Ludwig в 1980) — це клінічний синдром, що характеризується надлишковим накопиченням жиру в печінці і дегенерацією печінкових клітин, навіть за відсутності споживання алкоголю [3]. Тісний зв'язок НАЖХП з ожирінням та IP дозволяє розглядати НАЖХП як ураження печінки

*Роботу виконано в рамках фундаментальної НДР ДУ «Інститут проблем ендокринної патології НАМН України» «Розробка патогенетично обґрунтованих алгоритмів діагностики та лікування неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих на цукровий діабет 2 типу» (№ держреєстрації — 0111U000174).

Установою, що фінансує дослідження, є НАМН України.

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

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості.

Рукопис надійшов до редакції 17.11.2015.

при синдромі ІР [4]. Однак печінка є не тільки органом-мішенню, але і сама посилює метаболічні порушення при ІР [5]. Показано, що НАЖХП асоційована з печінковою ІР та ІР жирової тканини, а також іншими параметрами метаболічного синдрому [6].

НАЖХП визначається як генетико-екологічно-метаболічно-пов'язане захворювання, що охоплює спектр захворювань від простого стеатозу до неалкогольного стеатогепатиту, який може прогресувати до цирозу і гепатоцелюлярної карциноми. В різних країнах НАЖХП виявляється від 10% до 24% загальної чисельності населення і поширеність досягає до 75% осіб [7, 8].

Вважається, що поліморфізм генів у пацієнтів з НАЖХП асоційований з великою кількістю субстанцій, які беруть участь у метаболізмі жирів і вуглеводів в печінці [9, 10]. Клінічні дані, отримані на європейській популяції, свідчать про те, що деякі функціональні поліморфізми в генах, що кодують мікросомальний білок-переносник тригліцеридів, супероксиддисмутази 2, CD14-рецептор ендотоксину, *TNF- α* , трансформуючий фактор росту β і ангіотензиноген, можуть бути пов'язані зі стеатогепатитом або фіброзом печінки та грають роль у формуванні схильності до НАЖХП [11]. Наявна теорія щодо зв'язку ІР та запалення в еволюційній перспективі, яка наголошує значення сплук сімейства фактора некрозу пухлин для ІР [12]. Натепер відомо, що хронічне запалення низької інтенсивності відіграє роль як в патогенезі ЦД2, так і ІР [13]. Більш того, існує думка, що асоційоване із резистентністю до інсуліну хронічне запалення, верифіковане за його маркерами — С-реактивним білком, інтерлейкіном-6 та *TNF- α* , передую розвитку ЦД2 [14]. *TNF- α* , член сімейства цитокінів *TNF/TNFR*, є молекулою міжклітинної взаємодії, яка залучена в широкому спектрі захворювань людини. Він являє собою прозапальний цитокін із плейотропною дією, що продукується декількома типами

клітин (макрофагами, ендотеліоцитами, гладенько-м'язовими клітинами судин, адипоцитами та міоцитами) [15], а його роль в генезі ІР є предметом численних досліджень.

Ген *TNF* (синоніми: *DIF*, «*TNF superfamily, member 2*», *TNF-alpha*, *TNFSF2*) знаходиться в межах високо поліморфного регіону головного комплексу гістосумісності на короткому плечі хромосоми 6p21.3 [16]. Ген *TNF* є одним з найбільш поліморфних генів цитокінів. Його промоторно-енхансерна область містить від 9 до 13 поліморфних сайтів типу однонуклеотидних поліморфізмів (single nucleotide polymorphism, SNP). Однак найбільш значущі для людини — це заміни гуаніну на аденін в положеннях -308 і -238 . Позиції -308 і -238 припадають на промотор, що впливає на можливість зв'язування транскрипційних факторів з цією частиною гена і, таким чином, на швидкість транскрипції [17]. Дані нуклеотидні заміни — явище досить поширене, наприклад, серед європейців близько 27–33% осіб у своєму генотипі містять поліморфний (рідкісний) алель *TNF -308A* і близько 7–10% — рідкісний алель *TNF -238A*. Алель *TNF -308A* є сильнішим активатором транскрипції з 6–7-кратним підвищенням індукованого рівня транскрипції гена *TNF* [16]. Існує доказ того, що алель *A* пов'язаний з підвищеним рівнем *TNF- α* в плазмі порівняно з алелем *G* [18].

TNF- α є одним з найбільш важливих адипоцитокінів, проте роль цієї молекули в патогенезі НАЖХП остаточно не визначено і його взаємозв'язок з генетичними факторами, такими як однонуклеотидні поліморфізми, залишається маловідомим [19].

Метою дослідження було оцінити частоти алелей гена *TNF (-308 G > A)* в харківській популяції і можливість подальшого використання його в якості прогностичного маркера ризику розвитку цукрового діабету 2 типу за наявності неалкогольної жирової хвороби печінки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Була зібрана інформація про 50 практично здорових осіб м. Харкова та області. Обстежений загаль (окрім контрольних осіб)

складали виключно хворі на ЦД 2 типу з тривалим існуванням захворювання, з різним ступенем глікемічного контролю та по-

рушень печінкового гомеостазу, за відсутності ниркової недостатності віком від 28 до 80 років. Для аналізу було відібрано 118 осіб: з них 63 з ЦД 2 типу за наявності НАЖХП та 55 хворих на ЦД 2 типу без НАЖХП.

В нашому дослідженні верифікацію діагнозу НАЖХП проводили згідно з рекомендаціями Американської гастроентерологічної асоціації (AGA) та Американської асоціації з вивчення захворювань печінки (AASLD) на основі клінічного перебігу захворювання, показників ліпідного та вуглеводного обміну, активності АЛТ (аланінамінотрансфераза), АСТ (аспартатаміно-трансфераза), співвідношення АСТ/АЛТ та ехографічного обстеження [20].

ДНК виділяли з лейкоцитів за допомогою ChelexR100 [21]. Однонуклеотидну

заміну, локалізовану в промоторній зоні гена *TNF* (SNP $-308 G/A$, rs 1800629), визначили шляхом ампліфікації в полімеразній ланцюговій реакції. Використали прямий (GCAATAGGTTTTGAGGGCCATG) і зворотний (GGGACACACAAGCATCAAGGAT) праймери та ендонуклеаза *NcoI*. Як маркер молекулярної маси була використана ДНК *pUC19*, гідролізована ендонуклеазою *MspI* [22].

Перевірку статистичних гіпотез про рівність частот алелей та генотипів в основній і контрольній групах провели за допомогою критерію χ^2 на рівні значущості 0,05. Для оцінки ризику розвитку ЦД 2 типу та НАЖХП підраховували показник відношення шансів (Odds Ratio) — *OR* [23].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У 50 практично здорових індивідів частоти генотипів по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* розподілилися таким чином: 43 особи були гомозиготами *GG*, 7 мали гетерозиготний генотип *GA*, та гомозиготних осіб *AA* не виявлено. Також були розраховані частоти алелей, котрі становлять $p_G = 0,93$, $p_A = 0,07$. Генотипи 118 хворих на ЦД 2 по $-308 G/A$ гена *TNF* наступні: *AA* — 4, *GA* — 25, *GG* — 89. Частоти алелей становлять $p_G = 0,858$, $p_A = 0,142$. Статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами не виявлені ($p > 0,05$) (табл. 1). Розподіл генотипів в основній та контрольній групах відповідає співвідношенню Харді-Вайнберга. Результати генотипування, представлені

в табл. 1, свідчать, що група хворих на ЦД 2 типу і контрольна по частотах алелей вивченого SNP значущо не розрізняються.

В той же час слід відзначити, що група хворих на ЦД 2 типу відрізнялася від контрольної групи більшою гетерозиготністю. Питома вага гетерозиготних генотипів на третину більша ($p < 0,05$), ніж в контрольній групі. При порівнянні розподілу генотипів по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* у хворих на ЦД 2 типу та контрольних осіб було виявлено, що відсоток гетерозигот у хворих на ЦД 2 типу в 1,53 раз вищий, ніж серед контрольних осіб. У осіб контрольної групи нами не було виявлено гомозиготних носіїв генотипу *AA*. Відповідно до отрима-

Т а б л и ц я 1

Результати генотипування хворих на ЦД2 і здорових людей по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF*

Група	n	Генотип			Частоти алелей	Статистики для різниці частот алелей
		GG	GA	AA		
Контроль	50	43	7	0	$p_G = 0,93$; $q_A = 0,07$	$\chi^2 = 2,713$, $df = 1$;
Хворі на ЦД2	118	89	25	4	$p_G = 0,860$; $q_A = 0,140$	$\chi^2_{st} = 3,84$; $p > 0,05$

П р и м і т к а. 1) ЦД 2 — цукровий діабет 2 типу; 2) n — кількість обстежених; 3) q_A та p_G — частоти алелей A та G; 4) χ^2 та χ^2_{st} — фактичне і порогове значення критерію; 5) df — число ступенів свободи; 6) p — рівень значущості.

них даних частоти генотипів серед хворих на ЦД 2 типу відрізняються від практично здорових осіб ($\chi^2 = 5,15$; $df = 2$; $p < 0,076$). Звертає на себе увагу наступний факт: частота носіїв алеля *A* у хворих на ЦД 2 типу сумарно у гомозиготному ($-308 AA$ *TNF*) та гетерозиготному ($-308 GA$ *TNF*) варіантах ($AA + GA$) — склала 24,8%, що приблизно на третину більше, ніж а в групі популяційного контролю — 14,0% ($p < 0,05$).

Отже, отримані дані дозволяють зробити припущення про наявність зв'язку поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* з розвитком ЦД 2 типу. Це дало підставу припустити, що гомозиготність *AA* та гетерозиготність *GA* по поліморфізму $-308 G > A$ гена *TNF* є чинником підвищеного ризику по ЦД 2 типу.

За SNP $-308 G/A$ гена *TNF* було проаналізовано генотипування 55 хворих з ЦД 2 типу без НАЖХП та 63 хворих з ЦД 2 типу за наявності НАЖХП. Визначено, що у хворих індивідів на ЦД 2 типу з НАЖХП частоти генотипів по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* розподілилися таким чином: 2 особи були гомозиготами *AA*, 12 — гетерозиготами *GA*, 49 мали гомозиготний генотип *GG*, частоти алелей склали $p_G = 0,873$, $q_A = 0,127$. Статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами контролю та хворими на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП не ви-

явлені ($p > 0,05$). У хворих індивідів на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП частоти генотипів по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* розподілилися таким чином: 2 особи були гомозиготами *AA*, 13 — гетерозиготами *AG*, 40 мали гомозиготний генотип *GG*. Також не виявлено статистично значущих відмінностей в частоті алелей між групами хворих на ЦД 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП ($p_G = 0,861$, $q_A = 0,157$) ($p > 0,05$) (табл. 2).

При порівнянні розподілу генотипів по поліморфізму $-308 G > A$ гена *TNF* у хворих на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП та контрольних осіб (табл. 2) було виявлено, що відсоток гетерозигот у хворих на ЦД 2 типу в 1,72 раз вищий, ніж серед контрольних осіб, а відсоток гомозигот *AA* в майже в 4 рази вищий, ніж серед практично здорових осіб, бо серед здорових осіб не виявлено гомозиготних носіїв алелю *A*. Серед хворих на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП носіїв гомозиготного генотипу *GG* на 13% менше, ніж серед практично здорових осіб.

При порівнянні розподілу генотипів по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* у хворих на ЦД 2 типу з НАЖХП та практично здорових осіб не було виявлено статистично значущої різниці в частотах генотипів, незважаючи на те, що відсоток гетерозигот

Таблиця 2

Розподіл генотипів по поліморфізму $-308 G > A$ гена *TNF* у хворих на ЦД 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП і практично здорових осіб

Група генотипу	Генотип %			Статистика
	<i>GG</i>	<i>GA</i>	<i>AA</i>	
Хворі на ЦД 2 типу без НАЖХП	72,73	23,63	3,64	$\chi^2 = 0,810$, $df = 2$ $\chi_{st}^2 = 5,99$, $p = 0,677$
Хворі на ЦД 2 типу з НАЖХП	77,78	19,05	3,17	
Хворі на ЦД 2 типу (всі)	75,42	21,18	3,39	$\chi^2 = 5,15$, $df = 2$ $\chi_{st}^2 = 5,99$, $p = 0,076$ (контроль — ЦД 2 типу)
Контрольні особи	86,00	14,00	0,00	$\chi^2 = 6,52$, $df = 2$ $\chi_{st}^2 = 5,99$, $p < 0,038$ (відносно ЦД без НАЖХП) $\chi^2 = 4,14$, $df = 2$ $\chi_{st}^2 = 5,99$, $p = 0,126$ (відносно ЦД з НАЖХП)

Примітка. ЦД 2 типу — цукровий діабет 2 типу; НАЖХП — неалкогольна жирова хвороба печінки; χ^2 і χ_{st}^2 — фактичне і порогове значення критерію; df — число ступенів свободи; p — рівень значущості.

у хворих на ЦД 2 типу з НАЖХП в 1,4 рази вищий, ніж серед практично здорових осіб, а гомозигот *AA* у групі здорових зовсім немає (табл. 2).

При порівнянні розподілу частот генотипів по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* у хворих на ЦД 2 типу без НАЖХП та у хворих на ЦД 2 типу з НАЖХП було виявлено, що у хворих на ЦД 2 з ураженням печінки відсоток гомозигот *GG* в 1,3 рази вищий, ніж серед хворих на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП, однак статистично значуща різниця не була виявлена ($p > 0,05$), (табл. 3).

Частоти алелей і генотипів по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* у хворих на ЦД 2 з НАЖХП і хворих на ЦД 2 без НАЖХП та контрольних осіб представлено в табл. 4. Статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами не виявлені (табл. 3).

Розраховані нами частоти за поліморфізмом $-308 G/A$ гена *TNF* мають подібний напрям, що й літературні дані. Наприклад, частота алелю *A* для африканських жінок в дослідженні Yael T. Joffe та співавт. (2010) [24] була 14 і 20 % (для груп з нормальною вагою і ожирінням, відповідно). Автори цієї роботи вказують, що отримані ними частоти по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* не відрізняються від тих, які повідомляли для європеїдів (13–23 %) [25], афроамериканців (14,4 %) [26] та інших африканських популяцій (10–13 %). Дані цих дослідників відповідають отриманим нами результатам для хворих на ЦД 2 типу. У загально досліджуваної популяції Іспанії (без розподілу на групи здорових та осіб з різними захворюваннями), генотипи за поліморфізмом

$-308 G/A$ гена *TNF* розподілилися таким чином 73,1 % *GG*, 24,8 %, *GA* та 2,1 % *AA*. Частоти алелів $308 G$ і $308 A$ алелю були 85,4 % і 14,6 %, відповідно, і вони відповідали рівновазі Харді-Вайнберга [27]. Bhushan B. та співавт. (2009) у своїй роботі також вказують, що частота алеля *A* за поліморфізмом $-308 G/A$ гена *TNF* у азіатських індійців з ожирінням була 12,6 % [28], що також співпадає з нашими даними. В той же час серед здорового населення Швеції, дослідженого Skoog T. та співавт. (1999) [29], частота мінорного алеля *A* склала 0,20, а частота алеля *G* — 0,80. Юшина І. А. та співавт. (2008) також відмічають частоту мінорного алеля *A* у здорових осіб на рівні 11,64 % [30], що відрізняється з отриманими нами даними для контрольних осіб. Але отримані Сеїтовою Г. Н. та співавт. (2004) дані для частот алелей за поліморфізмом $-308 G/A$ на популяції сибірських татар (частота мінорного алеля *A* склала 0,11, а частота алеля *G* — 0,89) [31] співпадає з нашими показниками для контрольної групи. У населення ж східної Європи частота *G* та *A* алелів складала: в Чехії 0,83 та 0,17 [32], в Польщі — 0,87 та 0,13 [33]. Ці результати також майже однакові з нашими. Дослідження Дельва М. Ю. (2013) щодо частот алелей за поліморфізмом $-308 G/A$ гена *TNF* серед хворих на нелакунарний інсульт на популяції в м. Полтава демонструє, що у обстежених пацієнтів з нелакунарними інсультами, незалежно від вагової категорії, мажорним алелем $-308 G/A$ гена *TNF* є *G*-алель. Співвідношення частоти *G* та *A* алелів у пацієнтів з ішемічними інсультами і різною масою тіла практично не відрізняються: *G* та *A* алелі зустрічалися

Т а б л и ц я 3

Результати генотипування по поліморфізму $-308 G/A$ гена *TNF* у практично здорових осіб та хворих на ЦД 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП

Генотип	Контроль, <i>n</i>	Хворі на ЦД 2 типу без НАЖХП, <i>n</i>	Хворі на ЦД 2 типу з НАЖХП, <i>n</i>	Хворі на ЦД 2 типу (всі)
<i>GG</i>	43	40	49	89
<i>GA</i>	7	13	12	25
<i>AA</i>	0	2	2	4
p_G	0,930	0,861	0,873	0,860
q_A	0,070	0,157	0,127	0,140

Примітка. *n* — число обстежених; q_A і p_G — частоти алелей *A* і *G*.

в 90 % та 10 % [34]. Абсолютно ідентичний розподіл алелей $-308 G/A$ гену *TNF*, за даними грецьких дослідників [35]. Неспівпадіння відомостей щодо частоти мінорного алеля *A* за поліморфізмом $-308 G/A$ гена *TNF* серед різних досліджень можна пояснити етнічними відмінностями та неоднорідністю досліджуваних популяцій, а також різним дизайном дослідження та розміром вибірок.

При порівнянні розподілу частот генотипів в нашому дослідженні виявлено доволі цікавий факт. Привертає увагу те, що серед хворих на ЦД 2 типу (без урахування ураження печінки) та серед хворих на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП, носіїв рідкісного алелю *A* майже в два рази більше ніж серед практично здорових осіб ($p < 0,05$). В той же час при порівнянні частот генотипів серед контрольних осіб та хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП частота носіїв алелю *A* у 1,5 рази вища у порівнянні до контролю, однак статистична значущість цієї різниці нівелюється ($p > 0,05$).

Зважаючи на пілотний характер нашого дослідження було зроблено оцінку відношення шансів (табл. 4).

Первинні дані довели, що носійство алеля *A* в гомо- або гетерозиготному станах (*AA + GA*) збільшує ризик ЦД 2 типу приблизно в два рази ($OR = 1,97$, 95 % ДІ 0,96–4,03), а за відсутності в генотипі цього алеля (*GG*) ризик приблизно в половину зменшується ($OR = 0,50$, 95 % ДІ 0,25–1,04) в порівнянні з середнім значенням для населення в цілому. Незважаючи на статистичну незначущість показника *OR*, отримані дані надають можливість припустити, що вивчений поліморфізм гена *TNF* значною мірою

пов'язаний з ризиком розвитку ЦД 2, але обмежений обсяг вибірок не дозволив досягти мінімальної необхідної потужності критерію, що обґрунтовує доцільність подальшого дослідження за умов збільшення вибірки.

Після стратифікації досліджуваної групи на підгрупи хворих за наявності та відсутності ураження печінки, наші дані показали, що носійство алеля *A* в гомо- або гетерозиготному станах (*AA + GA*) у хворих за відсутності НАЖХП збільшує ризик захворювання на ЦД 2 ($OR = 2,35$, 95 % ДІ 1,15–4,79), а за відсутності в генотипі цього алеля (*GG*) ризик зменшується ($OR = 0,43$, 95 % ДІ 0,21–0,87), $p < 0,05$.

В літературі, показано, що у людей, гомозиготних по $-308 A$, ризик захворіти на ЦД 2 типу збільшений в 4,6 рази в порівнянні з людьми, негативними за $-308 A$ [36]. Нажаль, наявність обговорюваного алелю *A* веде не тільки до виникнення діабету, але і викликає подальшу коронарну артеріальну хворобу серця. Так, хворі на ЦД із коронарною артеріальною хворобою несуть алель $-308 A$ в 40,6 % випадках, тоді як люди, які страждають тільки коронарною артеріальною хворобою серця, мають його в 28,5 % випадках, здорові — в 23,2 % [37].

В нашому дослідженні визначено внесок генетичної компоненти до формування схильності розвитку ЦД 2 за SNP $-308 G/A$ гена *TNF*, що дає змогу розглядати носійство алеля *A*, як чинник підвищеного ризику щодо розвитку ЦД 2.

У хворих за наявності НАЖХП збільшує ризик розвитку ЦД 2 типу майже в два рази ($OR = 1,73$, 95 % ДІ 0,84–3,58), а за відсутності в генотипі цього алеля (*GG*)

Т а б л и ц я 4
Відношення шансів (*OR*) захворювання ЦД 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП при різних генотипах

Групи	Генотип	
	<i>AA + GA</i> <i>OR</i> (95 % ДІ <i>OR</i>)	<i>GG</i> <i>OR</i> (95 % ДІ <i>OR</i>)
Хворі на ЦД 2 типу (всі)	1,97 (0,96–4,03)	0,50 (0,25–1,04)
Хворі на ЦД 2 типу без НАЖХП	2,35 (1,15–4,79)	0,43 (0,21–0,87)
Хворі на ЦД 2 типу з НАЖХП	1,73 (0,84–3,58)	0,58 (0,28–1,19)

ризик приблизно на чверть зменшується ($OR = 0,58$, 95% ДІ 0,28–1,19) в порівнянні з середнім значенням для населення в цілому. Отримані результати відносно розподілу частот алелей за SNP $-308 G/A$ гена *TNF* у хворих на ЦД 2 типу за наявності або відсутності НАЖХП свідчать про відсутність чіткої ознаки регулюючого впливу визначеного поліморфізму на ризик розвитку «жирної печінки». Проте це не виключає можливого внеску даного поліморфізму в особливості перебігу захворювання, а також його зв'язок з наявністю та термінами появи ускладнень. Слід відзначити, що ймовірний ефект одиничних нуклеотидних

поліморфізмів без очевидного біологічного значення на експресію гена не може бути виключеним. Можливо, що цей SNP знаходиться в нерівноважному зчепленні з іншими мутаціями або в цьому гені, або з іншими генами, близько розташованими до гена *TNF*, що детермінує його ефекти. В попередніх дослідженнях різними авторами було показано, що деякі SNPs *TNF* були асоційовані із його рівнями в циркуляції та інсулінорезистентністю, але жодний з них не був постійно асоційованим із НАЖХП. В зв'язку з цим необхідний розширений пошук генетичних варіацій в самому гені та в генах, розташованих біля нього.

ВИСНОВКИ

1. Визначено внесок генетичної компоненти у формування схильності розвитку ЦД 2 типу за одонуклеотидним поліморфізмом $-308 G/A$ гена *TNF*, що дає змогу розглядати носійство алеля *A* як чинник підвищеного ризику розвитку ЦД 2 типу.
2. Не було виявлено асоціації дослідженого поліморфізму з ризиком розвитку НАЖХП. Отримані дані надають можливість припустити, що вивчений поліморфізм $-308 G/A$ гена *TNF* більшою мірою пов'язаний з ризиком розвитку ЦД 2 типу, а виникнення або прогресування НАЖХП переважно залежить від метаболічного дисбалансу, а не внеску дослідженого поліморфізму.
3. Необхідно продовжити роботу для виявлення функціональної ролі досліджуваного поліморфізму та можливих його асоціацій із показниками гормональної та метаболічної складових ІР у розвитку НАЖХП за наявності ЦД 2 типу.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Kershaw EE, Flier JS. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2548-2556.
2. Inadera H. *Int J Med Sci* 2008; 5(5): 248-262.
3. Yeh MM, Brunt EM. *Am J Clin Pathol* 2007; 128:837-847.
4. Bogomolov PO, Shul'pekova JuO. *Klin Perspektivy Gastrojenterologii i Gepatologii* 2004; 3: 20-26.
5. Butrova SA. *Rus Med Zhurn* 2001; 9(2): 56-60.
6. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, et al. *Diabetologia* 2005; 48: 634-642.
7. Miele L, Forgione A, Hernandez AP, et al. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005; 9: 273-277.
8. Yan E, Durazo F, Tong M, Hong K. *Nutr Rev* 2007; 65:376-384.
9. Stefan N, Schafer S, Machicao F. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4238-4243.
10. Kotronen A, Yki-Jarvinen H, Aminoff A, et al. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 593-602.
11. Nimantha Mark Wilfred de Alwis, Christopher Paul Day. *Semin Liver Dis* 2007; 27(1): 044-054.
12. Fernández-Real JM, Ricart W. *Diabetologia* 1999; 42(11): 1367-1374.
13. Pickup JC, Crook MA. *Diabetologia* 1998; 41(10): 1241-1248.
14. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, et al. 2001; 286(3): 327-334.
15. Koh KK, Han SH, Quon MJ. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(11): 1978-1985.
16. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:3195-3199.

17. Rydlovskaja AV, Simbircev AS. *Citokiny i Vospalenie* 2005; 4(3):4-10.
18. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. *Hum Mol Genet* 1992; 1: 353.
19. Rocio Aller, Daniel Antonio de Luis, Olatz Izaola et al. *Ann Hepatol* 2010; 9(4): 439-444.
20. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. *Hepatology* 2012; 55(6): 2005-2023.
21. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. *BioTechniques* 1991; 10: 506-513.
22. Xiaoxiang Guan, Zhongxin Liao, Hongxia Ma, et al. *BMC Cancer* 2011; 11: 447-556.
23. Armitage P, Berry G. Statistical methods in medical research, 3rd ed., *Blackwell Scientific Publications*, 1994: 620 p.
24. Yael T. Joffe, Lize van der Merwe, Madelaine Carstens, et al. *J Nutr Biochem Mol Genet Mechanisms* 2010; 140:901-907.
25. Fernandez-Real JM, Gutierrez C, Ricart W, et al. *Diabetes* 1997; 46: 1468-1472.
26. Kuffner T, Whitworth W, Jairam M, McNicholl J. *Hum Immunol* 2003; 64: 639-647.
27. Gonzalez-Sanchez JL, Martinez-Calatrava MJ, Martinez-Larrad MT, et al. *Clin Chem* 2006; 52(1): 97-103.
28. Bhushan B, Guleria R, Misra A, et al. *Respiratory Med* 2009; 103: 386-392.
29. Skoog T, van't Hooft FM, Kallin B, et al. *Human Mol Genet* 1999; 8(8): 1443-1449.
30. Jushina IA, Kalmykova EV, Nekipelova EV, Churnosov MI. *Chelovek i ego Zdorov'e* 2008; 2: 117-125.
31. Seitova GN, Bukreeva EB, Bujkin SV, et al. *Bjvl Sibirskoj Mediciny* 2004; 2: 29-34.
32. Kubistova Z, Mrazek F., Tudos Z, et al. *Int J Immunogenet* 2006; 33(4): 261-267.
33. Popko K, Gorska E, Potapinska O, et al. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59(6): 607-614.
34. Del'va MJu. *Visn Probl Biol Med* 2013; 2(103): 139-144.
35. Marousi S, Antonacopoulou A, Kalofonos H, et al. *Stroke Res Treatment* 2011; 2011: 414-420.
36. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Droog S, et al. *Genes Immun* 2002; 3: 225-228.
37. Vendrell J, Fernandez Real JM, Gutierrez C, et al. *Atherosclerosis* 2003; 167(2): 257-267.

ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ $-308 G/A$ ГЕНА ФАКТОРУ НЕКРОЗУ ПУХЛИН- α (TNF) У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ ЗА УМОВ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ

Тижненко Т. В.¹, Горшунська М. Ю.², Черняєва А. О.¹, Кравчун Н. О.¹,
 Караченцев Ю. І.^{1,2}, Атраментова Л. О.¹, Лещенко Ж. А.¹, Гладких О. І.¹, Красова Н. С.¹,
 Почерняєв А. К.¹, Опалейко Ю. А.¹, Плохотніченко О. О.¹, Чернявська І. В.¹,
 Полтораєв В. В.¹

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

²Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра ендокринології і дитячої ендокринології; м. Харків, Україна

Досліджено однонуклеотидний поліморфізм в промоторній області $-308 G/A$ гена TNF у хворих на ЦД 2 типу ($n = 118$) і здорових мешканців Харкова ($n = 50$). Встановлено відсутність значущих відмінностей у частоті алелей за однонуклеотидним поліморфізмом $-308 G/A$ у хворих на ЦД 2 типу ($p_G = 0,861$, $q_A = 0,157$), пацієнтів із ЦД 2 типу за наявності НАЖХП ($p_G = 0,873$, $q_A = 0,127$) та здорових осіб ($p_G = 0,930$, $q_A = 0,070$). За нашими даними внесок генетичної компоненти до формування схильності розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки у діабетичного загалу за однонуклеотидним поліморфізмом $-308 G/A$ гена TNF не визначено. Отримані дані обґрунтовують перспективи подальших досліджень, які повинні базуватися на вивченні ролі інших генів-кандидатів розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та їх зв'язку з різними метаболічними параметрами, що дозволить уточнити роль генів у формуванні цього захворювання.

Ключові слова: однонуклеотидний поліморфізм, ген фактор некрозу пухлин- α , цукровий діабет 2 типу, неалкогольна жирова хвороба печінки.

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ $-308 G/A$ ГЕНА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ $-α$ (TNF) У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА, ОСЛОЖНЕННОГО НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

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

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

²Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина

Исследован однонуклеотидный полиморфизм в промоторной области $-308 G/A$ гена фактор некроза опухоли- $α$ (TNF) у больных сахарным диабетом 2 типа ($n = 118$) и здоровых жителей Харькова ($n = 50$). Установлено отсутствие значимых различий в частоте аллелей по однонуклеотидному полиморфизму фактора некроза опухоли- $α$ у больных сахарным диабетом 2 типа ($p_G = 0,861$, $q_A = 0,157$), пациентов с сахарным диабетом, осложненным неалкогольной жировой болезнью печени ($p_G = 0,873$, $q_A = 0,127$) и здоровых лиц ($p_G = 0,930$, $q_A = 0,070$). По нашим данным вклад генетической компоненты в формирование склонности к развитию неалкогольной жировой болезни печени у лиц с диабетом по однонуклеотидному полиморфизму $-308 G/A$ гена TNF не выявлен. Полученные данные обосновывают перспективность дальнейших исследований, которые должны базироваться на изучении роли других генов-кандидатов развития неалкогольной жировой болезни печени и их связи с различными метаболическими параметрами, что позволит уточнить роль генов в формировании заболевания.

К л ю ч е в ы е с л о в а: однонуклеотидный полиморфизм, ген фактор некроза опухоли- $α$, сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени.

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM $-308 G/A$ OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF) GENE IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

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

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

²Kharkiv Postgraduate Medical Academy

Single nucleotide polymorphism in the promoter region $-308 G/A$ of tumor necrosis factor-alpha gene (TNF) in type 2 diabetes mellitus patients ($n = 118$) and healthy habitants of Kharkiv ($n = 50$) was studied. There were no significant differences in allele frequencies for single nucleotide polymorphism $-308 G/A$ in patients with type 2 diabetes ($p_G = 0.861$, $q_A = 0.157$), patients with type 2 diabetes in the presence of fatty liver disease ($p_G = 0.873$, $q_A = 0.127$) and healthy individuals ($p_G = 0.930$, $q_A = 0.070$). According to our data the contribution of genetic components in the predisposition to the formation of non-alcoholic fatty liver disease in individuals with diabetes on single nucleotide polymorphism $-308 G/A$ TNF gene was not identified. The obtained data have proved promising for further research, which should be based on a study of the role other candidate genes in the development of nonalcoholic fatty liver disease and their relationship to various metabolic parameters, which will clarify the role of genes in the formation of disease.

Key words: single nucleotide polymorphism, tumor necrosis factor-alpha gene, type 2 diabetes, nonalcoholic fatty liver disease.