

**МЕТАБОЛІЧНИЙ ДИСБАЛАНС  
У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ  
ЗА НАЯВНОСТІ ТА ВІДСУТНОСТІ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ  
ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ  
З УРАХУВАННЯМ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ  
– 308 G > A ГЕНА ФАКТОРУ НЕКРОЗУ ПУХЛИН- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )\***

Караченцев Ю. І.<sup>1,2</sup>, Полтораки В. В.<sup>1</sup>, Кравчун Н. О.<sup>1</sup>, Атраментова Л. О.<sup>4</sup>,  
Горшунська М. Ю.<sup>2</sup>, Тижненко Т. В.<sup>1</sup>, Красова Н. С.<sup>1</sup>, Лещенко Ж. А.<sup>1</sup>, Йенсен Е.<sup>3</sup>,  
Почерняев А. К.<sup>1</sup>, Гладких О. І.<sup>1</sup>, Черняева А. О.<sup>1</sup>, Плохотніченко О. О.<sup>1</sup>, Міщенко Т. В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна;

<sup>3</sup> Національний інститут охорони здоров'я та довкілля, Білтховен, Нідерланди;

<sup>4</sup> Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна  
[admin@iper.com.ua](mailto:admin@iper.com.ua)

З позицій сучасної медицини жирова тканина функціонує як ендокринний орган, секретує певні цитокіни, котрі мають назву «адипоцитокіни», такі як адипонектин, лептин, фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  — TNF $\alpha$ ) і так далі [1]. Вважають, що хімічні сигнали з білої жирової тканини безпосередньо пов'язані з інсулінорезистентністю (ІР) та запаленням, тому очікується, що циркуляторні рівні адипокінів можуть бути ко-

рисними в якості біомаркерів для оцінки ризику інших патологічних станів, асоційованих з ожирінням [2], наприклад, таких як неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП). НАЖХП стала основною проблемою для здоров'я в розвинених країнах, уражаючи понад 30 % від загальної кількості населення [3] і зазвичай пов'язана з резистентністю до інсуліну, що є основним фактором ризику розвитку цукрового діабету (ЦД) 2 типу та центральною ознакою

\* Роботу виконано в рамках договору про сумісну наукову діяльність між ДУ «Інститут проблем ендокринної патології НАМН України» та Національним інститутом охорони громадського здоров'я та екології (м. Білтховен, Нідерланди) (узгодження б/н RIVM від 18.10.2008 р.) «Адипоцитокіни та патерн чутливості до інсуліну у хворих на цукровий діабет 2 типу, що лікувалися n-3 поліненасиченими жирними кислотами» та 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 20.09.2017.

метаболического синдрому. Крім того, накопичені свідчення показують, що НАЖХП, а також резистентність до інсуліну сильно пов'язані з запаленням. Цитокіни та адипокіни відіграють ключову роль у запальних процесах [4]. Однак печінка є не тільки органом-мішенню, але і сама посилює метаболічні порушення при ІР [5]. Макрофаги, що накопичуються у жировій тканині, є джерелом локального синтезу цитокіну, що задіяний у НАЖХП — ФНП-а. У пацієнтів із жировою хворобою спостерігається підвищення рівнів матриксної РНК ФНП-а та рецепторів до цього цитокіну. ФНП-а дезрегулює метаболізм аполіпопротеїнів завдяки супресивному ефекту на секрецію білків apoE та apoA1. Треба додати, що ІР та локальне запалення у печінці активує власні макрофаги печінки (клітини Купфера), які починають синтезувати протиантизапальні цитокіни (ФНП-а, інтерлейкін-12, інтерферон- $\gamma$ ) [6, 7]

Найважливіша теорія щодо зв'язку ІР та запалення в еволюційною перспективою, яка наголошує на значенні системи ФНП для ІР [8]. Натепер вважають, що хронічне запалення низької інтенсивності відіграє роль як в патогенезі ЦД 2 типу, так і ІР [9]. Більш того, існує думка, що асоційоване із ІР хронічне запалення, верифіковане за його маркерами — С-реактивний білок, інтерлейкін-6 та ФНП-а, передує розвитку ЦД 2 типу [10].

Фактор некрозу пухлин ФНП-а, член сімейства цитокінів TNF/TNFR, є молекулою міжклітинної передачі, яка залучена в широкому спектрі захворювань людини. ФНП-а — прозапальний цитокін із плеiotропною дією, продукується декількома типами клітин (макрофаги, ендотеліоцити, гладенькі м'язові клітини судин, адипоцити та міоцити) [11], а його роль в генезі ІР являє собою предмет численних досліджень.

НАЖХП визначається як захворювання з генетичною схильністю [12]. Роль генетичної варіанти в НАЖХП, зокрема, одиночного нуклеотидного поліморфізму (SNP), була центром багатьох досліджень в останнє десятиліття, включаючи класичну асоціацію з дослідження генів-кандидатів [13]. Встановлено, що гени відігра-

ють істотну роль у схильності до НАЖХП та її прогресуванні [14]. Вважається, що поліморфізм генів у пацієнтів з НАЖХП асоційований з великою кількістю субстанцій, які беруть участь у метаболізмі жирів і вуглеводів в печінці [15, 16].

Попередні дані свідчать про те, що деякі функціональні поліморфізми в генах, що кодують мікосомальний білок-переносник тригліцеридів, супероксиддисмутази 2, CD14-рецептор ендотоксину, ФНП-а, трансформуючий фактор росту —  $\beta$  і ангіотензиноген, можуть бути пов'язані зі стеатогепатитом або фіброзом печінки та грають роль у визначенні сприйнятливості до НАЖХП [17]. Найбільш вагомі асоціації були знайдені для генетичних варіантів, що беруть участь у регуляції запалення, таких як ФНП-а [18].

Ген ФНП-а — *TNFA* знаходиться в межах високо поліморфного регіону головного комплексу гістосумісності на короткому плечі хромосоми 6p21.3 [19]. Ген *TNFA* є одним з найбільш поліморфних генів цитокінів. Його промоторно — ехансерна область містить від 9 до 13 поліморфних сайтів типу SNP. Однак найбільш значущі для людини — це заміни гуаніну на аденін в положеннях - 308 і - 238. Позиції - 308 і - 238 припадають на промотор, що позначається на можливості зв'язування транскрипційних факторів з цією частиною гена і, таким чином, впливу на швидкість транскрипції [20]. Дані нуклеотидні заміни — явище досить поширене, наприклад, серед європейців близько 27–33 % у своєму генотипі містять поліморфний (рідкісний) алель *TNFA*-308A і близько 7–10 % — рідкісний алель *TNFA*-238A. Алель *TNFA*-308A є сильнішим активатором транскрипції з 6–7-кратним підвищенням індукованого рівня транскрипції гена *TNFA* [19]. Існує доказ того, що алель A пов'язаний з підвищеним рівнем ФНП-а в плазмі порівняно з G алелем [21].

ФНП-а 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 одностандартний поліморфізм, залишається маловідомим [22].

**Метою** дослідження було оцінити частоти алелей гена *TNFA* (-308 G>A, rs1800629) в харківській популяції і можливість подальшого використання його в якості прогностичного маркера ризику розвитку цукрового діабету 2 типу за наявності неалко-

гольної жирової хвороби печінки, а також виявити фенотипові та метаболічні особливості пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки в залежності від наявності даного поліморфізму.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Була зібрана інформація про 50 практично здорових осіб м. Харкова та області. Обстежений загальний (окрім контрольних осіб) складали виключно хворі на ЦД 2 типу з тривалим існуванням захворювання на тлі метаболічного синдрому, з різним ступенем глікемічного контролю та порушень печінкового гомеостазу за відсутності ниркової недостатності віком від 28 до 80 років. Для аналізу було відібрано 117 осіб: з них 63 з ЦД 2 типу за наявності НАЖХП та 54 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 (аспартатамінотрансфераза), співвідношення АСТ/АЛТ та ехографічного обстеження [23]. Визначення рівня загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), тригліцеридів (ТГ) проводили ферментативним методом за допомогою наборів «НОВОХОЛ» (Росія), рівні холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) розраховували за формулою Фрідевальда. Вільні жирні кислоти (ВЖК) вимірювалися за використанням набору Wako Diagnostics (Richmond, США). Відповідно до інструкцій виробника за використанням імуноферментних наборів були визначені адипонектин (Biovendor, Чеська Республіка) та інсулін (DRG, Німеччина).

Інсулінорезистентність характеризували за індексом НОМА-ІР (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance) [24], який ґрунтується на одночасному визначенні індивідуальних рівнів інсуліну і глюкози в сироватці крові натще. Чутливість до інсуліну визначали за QUICKI (Quantitative Insulin Check Index) [25].

ДНК виділяли з лейкоцитів за допомогою *ChelexR100* [26]. Однонуклеотидну заміну, локалізовану в промоторній зоні гена *TNFA* (SNP — 308 G/A, rs 1800629), визначили шляхом ампліфікації в полімеразній ланцюговій реакції. Використали прямий (GCAATAGGTTTTGAGGGCCATG) і зворотний (GGGACACACAAGCATCAAGGAT) праймери та ендонуклеазу *NcoI*. Як маркер молекулярної маси була використана ДНК *pUC19*, гідролізована ендонуклеазою *MspI* [27].

Статистичний аналіз проведено за допомогою параметричних та непараметричних методів. Нормальність розподілу кількісних змінних визначали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосували *t* критерій Стьюдента, для порівняння змінних із ненормальним розподілом — критерій U-Манна-Уїтні. Дані представлено як *s* (середнє арифметичне та його похибка). Перевірку статистичних гіпотез про рівність частот алелей та генотипів в основній і контрольній групах проводили за допомогою критерію  $\chi^2$  на рівні значущості не менше 0,05. Для оцінки ризику розвитку ЦД 2 типу та НАЖХП підраховували показник відношення шансів (Odds Ratio) — *OR* [28].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Порівняно до контролю хворі на ЦД 2 типу за умов порушеного глюкозного гомеостазу характеризувалися виразним підвищенням ( $p < 0,001$ ) індексу маси тіла (ІМТ).

У хворих на ЦД 2 типу виявлено також значуще ( $p < 0,01$ ) зростання рівнів ВЖК, ТГ, ФНП-а, НОМА-ІР індексів, інсуліну натще та зниження чутливості до інсуліну

**Антропометричні, лабораторні та інструментальні показники  
у хворих на цукровий діабет 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП**

Показник	Контроль n = 21	Хворі з НАЖХП, n = 95 ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )	Хворі без НАЖХП, n = 51 ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )	p-рівень значущості при порівнянні груп хворих
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,80 ± 0,76	35,10 ± 0,77	32,13 ± 0,82	< 0,001
Відношення обвід талії / обвід стегон (ОТ/ОС)	0,78 ± 0,01	0,99 ± 0,01	0,96 ± 0,01	< 0,05
Глюкоза, ммоль/л	5,21 ± 0,11	9,83 ± 0,36	9,19 ± 0,45	> 0,05
HbA <sub>1c</sub> , %	5,4 ± 0,10	7,26 ± 0,13	7,09 ± 0,20	> 0,05
Інсулін, пмоль/л	85,21 ± 8,00	145,45 ± 19,35	120,79 ± 14,66	> 0,05
НОМА-IR індекс, ум. од.	3,06 ± 0,28	9,86 ± 1,44	6,65 ± 0,62	< 0,05
QUICKI, ум. од.	0,56 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,48 ± 0,01	> 0,05
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,54 ± 0,17	1,15 ± 0,03	1,08 ± 0,05	> 0,05
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	3,84 ± 0,30	3,26 ± 0,17	3,30 ± 0,18	> 0,05
ТГ, ммоль/л	1,56 ± 0,20	3,96 ± 0,57	2,22 ± 0,15	< 0,01
ВЖК, ммоль/л	0,70 ± 0,06	1,13 ± 0,09	1,23 ± 0,11	> 0,05
ФНП-α, пг/мл	5,47 ± 3,44	20,36 ± 4,81	10,05 ± 1,62	< 0,01

Примітка: ум. од. — умовні одиниці.

(QUICKI). Виявлено, що середній рівень ФНП-α у хворих на ЦД 2 типу в 3 рази вищий, ніж у групі контролю (p < 0,05)

Пацієнти, хворі на ЦД 2 типу, були розподілені на групи для подальшого визначення експресії гормонально-метаболических порушень залежно від наявності або відсутності НАЖХП (табл. 1).

Хворі на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП мають більший (p < 0,001) ІМТ, ніж хворі на ЦД 2 типу без наявності НАЖХП. Відношення ОТ/ОС серед хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП вище (p < 0,05), ніж серед хворих на ЦД 2 типу без наявності НАЖХП. У обстеженого діабетичного загалу верифіковано підвищення індексу НОМА-IR за наявності НАЖХП (p < 0,05) в порівнянні до групи хворих на ЦД 2 типу, неускладненого НАЖХП. Крім того, за наявності НАЖХП встановлено особливості дисліпідемії з достовірним підвищенням вмісту ТГ (p < 0,05). Стратифікація діабетичного загалу за наявності та відсутності НАЖХП засвідчила більш виразне підви-

щення циркуляторних рівнів ФНП-α за наявності НАЖХП (p < 0,05), що обґрунтовує доцільність використання цього показника для подальшого застосування в якості діагностичного параметру вищезначеного ускладнення. Встановлено, що рівень ФНП-α у даній категорії хворих (за наявності НАЖХП) значущо зростає зі збільшенням маси тіла. Так, в групі з підвищеним ІМТ (26–29 кг/м<sup>2</sup>) його рівень склав 17,98 ± 5,34 пг/мл, а в групі з ІМТ ≥ 30 — 33,58 ± 5,90 пг/мл, в групі контролю — 5,47 ± 3,44 пг/мл (p < 0,05). Відомо, що з розвитком ожиріння відбувається не тільки збільшення розмірів і кількості адипоцитів (гіпертрофічна/гіперпластична експансія жирової тканини), а й зміна їх функціональної активності, що сприяє розвитку асоційованих з ожирінням клінічних і метаболических змін. У хворих з поєднаним перебігом НАЖХП та ЦД 2 типу додатковим показником прогресування метаболических змін є гіперпродукція ФНП. Кореляційний зв'язок між ІМТ та ФНП-α (r = 0,18; p = 0,06)

може свідчити про взаємопотенціюючу роль цих чинників у прогресуванні НАЖХП, що поглиблюється за умов підвищеної маси тіла. Таким чином, пошук шляхів патогенетичної корекції механізмів прогресування НАЖХП є дуже актуальним і вимагає удосконалення схем лікування жирової дистрофії печінки у хворих на ЦД 2 типу.

Викриття ролі і біологічних ефектів адипоцитокінів, їх головних характеристик і метаболічних ефектів дозволяє розглядати їх активність в контексті основних компонентів патогенезу НАЖХП. Поряд із розумінням ролі жирової тканини як активного ендокринного органу, здатного секретувати ряд специфічних гормонів, задіяних в регуляції біологічних ефектів інсуліну і генезі ІР, таких як адипонектин, лептин, резистин, ретинол-зв'язуючий протеїн-4 і ФНП- $\alpha$  [29], відкритим залишається питання про роль прозапальних цитокінів, зокрема ФНП- $\alpha$ , в ініціації і підтримці запалення на різних стадіях розвитку НАЖХП, а представлені в літературі дані нечисленні і суперечливі.

Згідно з результатами ряду проведених досліджень, ФНП- $\alpha$  притаманна цитотоксична дія стосовно бета-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози [30]. Також було виявлено високий рівень цього цитокіну в осіб з нещодавно діагностованим ЦД 1 типу [31]. Вміст ФНП- $\alpha$  залишається високим також за повного зникнення функціональної активності бета-клітин, що дозволяє висловити гіпотезу щодо асоціації гіперглікемії з персистуючим хронічним запаленням [31]. За рядом повідомлень цей цитокін виступає зв'язуючою ланкою між системним запаленням, резистентністю до інсуліну та ожирінням [32], що відіграє важливу роль в розвитку ЦД 2 типу, але наявні також повідомлення щодо відсутності статистично доведеного зв'язку між циркулюючим ФНП- $\alpha$ , ожирінням та ЦД 2 типу [33]. Так, концентрація ФНП- $\alpha$  в плазмі хворих на ЦД 2 типу була подібна верифікованій у контрольних здорових осіб, при цьому був відсутній зв'язок між базальними рівнями ФНП- $\alpha$  та темпом утилізації глюкози, визначеним за допомогою техніки гіперінсулінемічного еуглікемічного затискача [34].

Ці суперечливі знахідки ведуть до розмірковування відносно ролі ФНП- $\alpha$  у розвитку ІР та обґрунтовують доцільність подальших досліджень у хворих на ЦД 2 типу та НАЖХП.

Зростання виразності ІР у хворих на ЦД 2 типу, ускладненого НАЖХП, супроводжується підвищенням активності прозапальної ланки цитокінів, представлені ФНП, що може розглядатись як тригер ускладнення. Незважаючи на досить велику кількість робіт, що вивчають механізми розвитку НАЖХП, відсутнє чітке уявлення про залежність прозапальних цитокінів від стадії розвитку НАЖХП і активності патологічного процесу. Таким чином, вивчення значення ФНП- $\alpha$  у патогенезі та прогресуванні НАЖХП, а також його одонуклеотидних поліморфізмів, представляє безперечний інтерес.

У 50 практично здорових індивідів частоти генотипів по поліморфізму - 308 G>A гена *TNFA* розподілилися таким чином: 43 особи були гомозиготами GG, 7 мали гетерозиготний генотип AG, 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 типу по - 308 G>A гена *TNFA* наступні: 4AA: 25AG: 89GG. Частоти алелей становлять  $p_G = 0,858$ ,  $p_A = 0,142$ . Статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами не виявлені ( $p > 0,05$ ). Розподіл генотипів в основній та контрольній групах відповідає співвідношенню Харді-Вайнберга. Результати генотипування, свідчать, що група хворих на ЦД 2 типу і контрольна по частотах алелей вивченого SNP значущо не розрізняються ( $\chi^2 = 2,713$ ;  $df = 1$ ;  $\chi^2_{st} = 3,84$ ;  $p > 0,05$ ).

Група хворих на ЦД 2 типу відрізняється 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 *TNFA* у хворих на ЦД 2 типу та практично здорових осіб було виявлено, що відсоток гетерозигот у хворих на ЦД 2 типу в 1,53 раз вищий, ніж серед практично здорових осіб. У той час, як серед осіб

Співвідношення генотипів - 308 G>A гена TNF $\alpha$  у хворих на ЦД 2 типу і здорових осіб

Поліморфізм	Група	n	Генотип %			Статистики для частот генотипів (контроль — ЦД 2)
			GG	AG	AA	
- 308 G>A гена TNF $\alpha$	Контроль	50	86,00	14,00	0,00	$\chi^2 = 5,15; df = 1;$ $\chi^2_{st} = 3,84; p < 0,05$
	Хворі на ЦД 2 типу	118	75,42	21,18	3,39	

## Примітки:

n — кількість обстежених;  $p_A$  и  $p_G$  — частоти алелей А и G;  $\chi^2$  и  $\chi^2_{st}$  — фактичне і порогове значення критерію; df — число ступенів свободи; p — рівень значущості.

контрольної групи нами не було виявлено гомозиготних носіїв генотипу AA (табл. 2). Частота носіїв алеля А у хворих на ЦД 2 типу сумарно у гомозиготному (- 308 AA TNF $\alpha$ ) та гетерозиготному (- 308 GA TNF $\alpha$ ) варіантах склала 24,79 %, а в групі популяційного контролю — 14 % ( $p < 0,05$ ).

Відповідно до отриманих даних частоти генотипів серед хворих на ЦД 2 типу відрізняються від практично здорових осіб ( $\chi^2 = 5,15; df = 1; p < 0,05$ ).

Отже, отримані дані дозволяють зробити припущення про наявність зв'язку поліморфізму - 308G/A гена TNF $\alpha$  з розвитком ЦД 2 типу. Це дало підставу вважати, що гомозиготність AA та гетерозиготність GA по поліморфізму — 308G>A гена TNF $\alpha$  є чинником підвищеного ризику по ЦД 2 типу. Зважаючи на пілотний характер нашого дослідження було зроблено попередню оцінку відношення шансів (OR) (табл. 3).

Первинні дані показали, що носійство алеля А в гомо- або гетерозиготному стані (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. Однак, не була статистично доведена значущість даного відношення

шансів. Незважаючи на це, отримані дані надають можливість припустити, що вивчений поліморфізм гена ФНП-а більшою мірою пов'язаний з ризиком розвитку ЦД 2 типу. Можливо, причина полягає в тому, що обмежений обсяг вибірок не дозволив досягти мінімальної необхідної потужності критерію, а це обґрунтовує доцільність подальшого дослідження за умов збільшення вибірки.

За одонуклеотидним поліморфізмом - 308 G>A гена TNF $\alpha$  було проаналізовано генотипування 55 хворих з ЦД 2 типу без НАЖХП та 63 хворих з ЦД 2 типу з НАЖХП. У хворих індивідів на ЦД 2 типу з НАЖХП частоти генотипів по поліморфізму - 308 G>A гена TNF $\alpha$  розподілилися таким чином: 2 особи були гомозиготами AA, 12 — гомозиготами AG, 49 мали гетерозиготний генотип GG. Також були розраховані частоти алелей, котрі становлять  $p_G = 0,873$ ,  $p_A = 0,127$ . Статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами контролю та хворими на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП не виявлені ( $p > 0,05$ ). У хворих індивідів на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП частоти генотипів по поліморфізму - 308 G>A гена TNF $\alpha$  розподілилися таким чином: 2 особи були гомозиготами AA, 13 — гомозиготами AG, 40 мали гетерозиготний генотип GG. Також не виявле-

Таблиця 3

Відношення шансів (OR) захворювання на цукровий діабет 2 типу при різних генотипах

Генотип	OR	95 % ДІ OR
AA+AG	1,97	0,96 – 4,03
GG	0,50	0,25 – 1,04

ні статистично значущі відмінності в частоті алелей між групами хворих на ЦД 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП ( $p_G = 0,861$ ,  $p_A = 0,157$ ), ( $p > 0,05$ ). При порівнянні розподілу вивчених генотипів у хворих на ЦД 2 типу за відсутності НАЖХП та практично здорових осіб було виявлено, що відсоток гетерозигот у хворих на ЦД 2 типу в 1,72 раз вищий, ніж серед практично здорових осіб, а відсоток гомозигот AA майже в 4 рази вищий, ніж серед практично здорових осіб (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 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 у хворих на ЦД 2 типу з НАЖХП в 1,4 рази вищий, ніж серед практично здорових осіб, а гомозигот AA у групі здоро-

вих зовсім немає ( $\chi^2 = 4,14$ ,  $df = 2$ ;  $\chi^2_{st} = 5,99$ ,  $p = 0,126$ ).

При порівнянні розподілу частот генотипів по поліморфізму - 308 G>A гена *TNFA* у хворих на ЦД 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП було виявлено, що у хворих на ЦД 2 типу з НАЖХП відсоток гомозигот GG в 1,3 рази вищий, ніж серед хворих на ЦД 2 типу без НАЖХП, однак статистично значуща різниця не була виявлена ( $\chi^2 = 0,810$ ,  $df = 2$ ,  $\chi^2_{st} = 5,99$ ,  $p = 0,677$ ).

Розраховані нами частоти по поліморфізму - 308 G>A гена *TNFA* узгоджуються з літературними даними [35–38].

Для того, щоб оцінити, чи впливає поліморфізм *TNFA* на клінічні параметри, ми порівняли генотипи *TNFA* з клінічними характеристиками пацієнтів з ЦД 2 типу за наявності або відсутності НАЖХП. Біохімічні та гормональні показники у хворих на ЦД 2 типу, котрі були досліджені із стратифікацією відносно генотипів за поліморфізмом - 308 G>A гена *TNFA*, подані в таблицях 4 та 5.

Таблиця 4

**Клінічні та лабораторні характеристики  
обстежених хворих на цукровий діабет 2 типу без НАЖХП —  
носіїв різних генотипів за поліморфізмом - 308 G>A гена TNFA**

Досліджуваний показник	Генотип	
	AA + GA	GG
Тривалість діабету, роки	5,78 ± 1,20	6,90 ± 1,30
Вік на час обстеження, роки	53,22 ± 3,11	54,63 ± 2,05
Вік на початку захворювання, роки	47,44 ± 3,07	48,88 ± 2,08
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,94 ± 1,76	29,60 ± 1,29
ОТ/ОС	0,97 ± 0,03	0,96 ± 0,01
Глікемія натще, ммоль/л	8,60 ± 0,50	9,63 ± 0,64
НвA <sub>1c</sub> , %	6,50 ± 0,28	7,39 ± 0,26
Інсулін, пмоль/л	135,75 ± 43,09	115,41 ± 13,22
НОМА-IR, ум.од	7,54 ± 1,90	6,33 ± 0,53
QUICKI, ум.од	0,47 ± 0,02	0,48 ± 0,01
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,11 ± 0,14	1,04 ± 0,04
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	3,51 ± 0,29	3,18 ± 0,25
Тригліцериди, ммоль/л	2,47 ± 0,29	2,13 ± 0,17
ВЖК, ммоль/л	1,11 ± 0,22	1,27 ± 0,13
ФНП-α, пг/мл	6,08 ± 2,62	10,64 ± 2,05
АсАТ	0,63 ± 0,11	0,67 ± 0,06
АлАТ	1,08 ± 0,22	1,07 ± 0,09

**Клінічні та лабораторні характеристики  
обстежених хворих на цукровий діабет 2 типу за НАЖХП —  
носіїв різних генотипів за поліморфізмом - 308 G>A гена TNF- $\alpha$**

Досліджуваний показник	Генотип	
	AA + GA	GG
Тривалість діабету, роки	4,91 $\pm$ 1,75	10,59 $\pm$ 2,11
Вік на час обстеження, роки	50,67 $\pm$ 2,56	54,44 $\pm$ 2,08
Вік на початку захворювання, роки	46,83 $\pm$ 2,56	48,44 $\pm$ 1,81
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	38,41 $\pm$ 2,53	33,79 $\pm$ 0,86
ОТ/ОС	1,02 $\pm$ 0,03	0,98 $\pm$ 0,02
Глікемія натще, ммоль/л	8,29 $\pm$ 0,70	10,22 $\pm$ 0,55
НвА <sub>1с</sub> , %	7,20 $\pm$ 0,42	7,42 $\pm$ 0,18
Інсулін, пмоль/л	135,04 $\pm$ 18,30	148,93 $\pm$ 25,29
НОМА-IR, ум.од	6,85 $\pm$ 1,44	10,75 $\pm$ 2,06
QUICKI, ум.од	0,47 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,02
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,08 $\pm$ 0,03	1,10 $\pm$ 0,05
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	3,34 $\pm$ 0,42	3,53 $\pm$ 0,31
Тригліцериди, ммоль/л	3,82 $\pm$ 0,58	2,89 $\pm$ 0,43
ВЖК, ммоль/л	0,97 $\pm$ 0,11	1,21 $\pm$ 0,11
ФНП- $\alpha$ , пг/мл	21,17 $\pm$ 6,99	17,11 $\pm$ 2,63
АсАТ	0,71 $\pm$ 0,14	0,59 $\pm$ 0,04
АлАТ	1,12 $\pm$ 0,20	0,74 $\pm$ 0,05

Ми виявили асоціації з ознаками ожиріння для пацієнтів з ЦД 2 типу за наявності НАЖХП: особи з генотипом AA + AG мали значно більший ІМТ ( $p < 0,1$ ) та ОТ/ОС ( $p < 0,1$ ) порівняно з GG-індивідами. Вивчаючи поліморфізм гена *TNF $\alpha$* , J. Lui та співавт. виявили, що гомозиготи за G-алелем з ожирінням більш ефективно знижують масу тіла, ніж носії A-алелю. При схудненні на 26,6 % від початкової ваги відбувалося достовірне зниження ФНП- $\alpha$  приблизно на 58 % від початкового рівня. Дослідження D. A. Luis та співав. (2007), присвячені дослідженню ефективності дієти в залежності від поліморфізму - 308 гена *TNF $\alpha$*  [39], показали, що втрата ваги пов'язана з різними змінами з урахуванням різних генотипів за поліморфізмом - 308 G>A гена *TNF $\alpha$* . Доведено, що носії GG-варіанта гена *TNF $\alpha$*  мають кращу метаболічну відповідь, ніж AA-пацієнти з ожирінням [40].

Додатково, у носіїв алелю A відносно гомозигот GG в нашому дослідженні відмічено тенденцію до більш виразної дислі-

підемії за деякими параметрами ліпідного профілю, а саме, рівнями холестерину ЛПНЩ та ТГ ( $p > 0,05$ ) на тлі більшої гіперФНП- $\alpha$ -немії. Є дані про те, що ФНП- $\alpha$  визначає концентрацію ТГ в плазмі крові, особливо в постпрандіальний період, сприяючи зниженню рівня холестерину ЛПВЩ і утворенню дрібних щільних частинок ЛПНЩ [41]. В нашому дослідженні носії *TNF $\alpha$* -308 A-алелю хворі на ЦД 2 типу, ускладнений НАЖХП, показали більш високі рівні ТГ (AA+GA 3,82  $\pm$  0,58 проти GG 2,89  $\pm$  0,43 ммоль/л) і більш низькі рівні холестерину ЛПНЩ (AA+GA 3,34  $\pm$  0,42 проти GG 3,53  $\pm$  0,31 ммоль/л), ніж носії GG генотипу. Тим не менш, така асоціація не була статистично значущою ( $p > 0,05$ ). Крім того, пацієнти без НАЖХП мають нижчі рівні ТГ, ніж хворі на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП незалежно від генотипу як для GG, так і для гетерозигот AG ( $p < 0,05$ ).

Відмічена нами тенденція співпадає з літературними даними, де при вивченні поліморфізму G/A - 308 виявлено, що гомо-



зиготи за *A*-алелем мають більш високий рівень систолічного артеріального тиску (АТ) і більш низький рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ), ніж гомозиготи за *G*-алелем [42]. Одне з найбільших досліджень, присвячених зв'язку ФНП- $\alpha$  з компонентами метаболічного синдрому, було проведено Skoog та співавт. В 2002 році, та встановило, що рівень ФНП- $\alpha$  в плазмі крові пов'язаний з систолічним і діастолічним АТ, рівнем ТГ і ХС ЛПНЩ, а також зі ступенем виразності ІР [43]. Можливо досягти статистично значущої різниці нам не дозволила замала вибірка. У той же час слід відзначити, що обстежених носіїв генотипу *AA* у групі хворих на ЦД 2 типу за наявності та відсутності НАЖХП було тільки чотири особи, і це спостереження необхідно перевірити на більшій кількості досліджень вищевказаного поліморфізму.

За даними багатьох проспективних досліджень відомо, що ФНП- $\alpha$  має прозапальну дію і підвищення його рівня є раннім предиктором стеатозу печінки і дисліпидемії. У дослідженого нами загалу рівень ФНП- $\alpha$  був суттєво підвищений порівняно до контрольних осіб ( $p < 0,001$ ). Крім того, носії алелю *A*, хворі на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП, мали менш високі рівні ФНП- $\alpha$ , ніж гомозиготи - *308 GG*, хоча статистично значущої різниці за генотипами в кожній з досліджуваних груп не виявлено ( $p > 0,05$ ). Однак, рівні ФНП- $\alpha$  носіїв алелю *A* хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП були значно вищі, ніж у носіїв цього ж алелю без НАЖХП ( $p < 0,01$ ).

Відомо, що нуклеотидна заміна гуаніну на аденін в позиції - 308 промоторної області гена *TNF $\alpha$*  значно підвищує його транскрипційну активність і збільшує швидкість утворення мРНК [44]. У носіїв генотипу - *308A* / - *308A* синтез білка відбувається в 3 рази активніше, ніж в осіб з генотипом - *308G* / - *308G* [20]. Тому наявність алелю - *308A* сприяє збільшенню продукції білка ФНП- $\alpha$ , що узгоджується з даними імуноферментного аналізу [45]. Таким чином, надмірна продукція ФНП- $\alpha$  при поліморфізмі - *308A* може грати роль в розвитку ФНП- $\alpha$ -асоційованих захворювань, таких

як діабет. Цей поліморфізм - *308A* може виступати в якості генетичного фактору високої експресії ФНП, що може згодом змінити імунну відповідь в бік більш згубних результатів. Отже, асоціація між - *308A TNF $\alpha$*  промоторним поліморфізмом і схильністю до різних захворювань вказує на функціональну значущість поліморфізму [46].

В результаті нашого дослідження виявлено, що алельні частоти поліморфізму *G308A* знаходяться у відповідності до частот алелей, які спостерігаються в інших популяціях. Носії алелю *308A* мають антропометричний та метаболічний профіль, подібний до профілю носіїв *GG*-генотипу.

Подібний ступінь гіпер-ФНП- $\alpha$ -немії у досліджених груп хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП скоріше за все пов'язаний з тим фактом, що надфізіологічна гіперінсулінемія (яка спостерігалася у всіх пацієнтів), а не патологія печінки, яка виникає пізніше, має вирішальне значення для стимулювання синтезу та секреції ФНП- $\alpha$ . Ця думка може бути підтверджена тим, що у дослідженнях *in vivo*, виконаних на макрофагах, було виявлено, що інсулін стимулює експресію гена *TNF $\alpha$*  і секрецію цього білка [47]. ФНП- $\alpha$  впливає на продукцію білків і ліпідів, які в свою чергу діють як системні медіатори ефектів ФНП- $\alpha$  в організмі. Підвищений рівень ФНП- $\alpha$  зменшує секрецію адипонектину, призводить до збільшення концентрацій ВЖК у крові, індукуює експресію інтерлейкіну-6 та його рецептору в печінці і м'язах, інгібує метаболічні ефекти інсуліну (наприклад, інгібує синтез глікогену) за рахунок блокування інсулінозалежної активації переносника сигналу і тим самим сприяє розвитку ІР.

ІР розглядається як самостійний чинник, здатний визначити розвиток і прогресування НАЖХП. Зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну та порушення надходження глюкози в клітини призводять до розвитку гіперінсулінемії, підвищення швидкості ліполізу в жировій тканині та надходження збільшеної кількості ВЖК в печінку, зниження швидкості їх окислення і посилення естерифікації, і, таким чином, до надмірного утворення ТГ в печінці та розвитку стеатозу [48].

Отже, в нашому дослідженні на даному етапі виявлена тільки тенденція до різниці в гормонально-метаболических показниках. Можна сказати, що не спостерігалось ніякого зв'язку між *TNFA*-308 поліморфізмом і ризиком розвитку НАЖХП. Тим не менш, ми виявили тенденцію шкідливих ефектів - 308А-алелю на рівні ліпідів у хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП, припускаючи, що *TNFA*-308 А-алель може сприяти резистентності до інсуліну у хворих, що, у свою чергу, може збільшити ризик ускладнень.

На даному етапі необхідно продовжити роботу для виявлення функціональної ролі досліджуваного поліморфізму (- 308 G>A гена *TNFA*) та можливих його асоціацій із показниками гормональної та метаболічної складових ІР у розвитку НАЖХП за наявності ЦД 2 типу.

В цілому розгляд досліджень, присвячених взаємозв'язку між поліморфізмом генів цитокінів, в тому числі й найбільш вивченого *TNFA* G308A, і ризиком НАЖХП, дали неоднозначні, часом суперечливі результати. Це, можливо, пояснюється кількома факторами: поліморфізм не є безпосередньо функціональним, але тісно пов'язаний з іншими довколишніми функціональними змінами гена; існують ген-ген-взаємодії, які ускладнюють сприйнятливості; етнічна розмаїтість досліджуваних груп; інші важливі впливи навколишнього середовища, які повністю не враховувалися або були виключені при дослідженні популяцій. Незважаючи на те, що більшість досліджень з даної тематики являють собою попередні докази кореляції між SNP генів цитокінів і різними захворюваннями, дане питання не втрачає своєї актуальності. Так, при виявленні прогностично значущих поліморфізмів для ЦД 2 типу та НАЖХП визначення груп ризику буде можливо на досимптомному етапі захворювання, що дозволить завчасно проводити адекватну профілактику. Крім того, одна з основних переваг генетичних методів над іншими — діагностика виконується всього один раз в житті і не залежить від динамічних змін організму. Таким чином, вивчення поліморфізмів генів ци-

токінів як біомаркерів ЦД 2 типу та його ускладнень представляється перспективним і актуальним, що зумовлено виявленнями нових, більш вузьких, груп ризику, а також вибором найбільш оптимальної персоналізованої терапії та профілактики даної патології. Подальше вивчення ролі адипоцитокінів у складних патогенетичних ланцюгах НАЖХП залишається перспективним науковим напрямком, а розроблення нових діагностичних і лікувальних алгоритмів для оптимізації curaції цих пацієнтів має важливе практичне значення.

В нашому дослідженні не встановлена асоціація НАЖХП з генотипами, що містять низькопродуктивні алелі і гаплотипи *TNFA*.

Можна припустити, що для представників української популяції харківської області характерна тенденція до підвищення продукції ФНП-а, що перешкоджає процесу визначення вогнища запалення і сприяє поширенню запального процесу. Варіабельність результатів досліджень може бути пов'язана як з генетичною гетерогенністю досліджених популяцій, так і з патофізіологічними особливостями НАЖХП. Вочевидь, в процесі расо- і етногенезу частоти алелів і генотипів придбали свою специфіку у різних народів і це, в свою чергу, могло внести певний внесок в спадковий компоненту диференціальної схильності до НАЖХП в різних популяціях. Крім того, важливою проблемою низької результативності картування генів схильності до НАЖХП є унікальність індивідуальних поєднань алелів генів схильності, які формують ризик захворювання різних популяцій, недостатній обсяг досліджуваних вибірок, що не дозволяє оцінити комплексний характер взаємодії генів і їх конкретну роль в детермінації полігенної схильності до НАЖХП.

Незважаючи на очевидну практичну значимість, вказані вище питання недостатньо висвітлені в літературі. Вкрай актуальною є комплексна оцінка залученості різних поліморфних варіантів генів-кандидатів у формування НАЖХП в різних популяціях.

## ВИСНОВКИ

- У хворих на цукровий діабет 2 типу з надлишковою масою тіла та інсулінрезистентним патерном гормонально-метаболічних порушень діагностовано виразну гіпер-ФНП-α-немію за модулюючого впливу неалкогольної жирової хвороби печінки.
- Визначено внесок генетичної компоненти до формування схильності розвитку ЦД 2 типу за однонуклеотидним поліморфізмом — 308 G>A гена TNFα, що дає змогу розглядати носійство алеля А, як чинник підвищеного ризику щодо розвитку ЦД 2 типу.
- Не було виявлено асоціації дослідженого поліморфізму з ризиком розвитку НАЖХП. Не встановлена асоціація НАЖХП з генотипами, що містять низькопродуктивні алелі TNF-α. Отримані дані надають можливість припустити, що вивчений поліморфізм — 308 G>A гена TNFα більшою мірою пов'язаний з ризиком розвитку ЦД 2 типу, а виникнення або прогресування НАЖХП, в першу чергу, залежить від метаболічного дисбалансу, а не внеску дослідженого поліморфізму.
- Отримані нами результати щодо однонуклеотидного поліморфізму 308 G>A гена TNFα та їх співставлення з даними інших клінічних розробок засвідчують специфічне значення досліджуваної популяції.
- Перспективи подальших досліджень повинні базуватися на вивченні ролі інших генів-кандидатів розвитку НАЖХП та їх зв'язку з різними метаболічними параметрами, що дозволить уточнити роль генів у формуванні НАЖХП в українській популяції.

ЛІТЕРАТУРА  
(REFERENCES)

- Estep JM, Baranova A, Hossain N, et al. *Obes Surg* 2009; 19: 617-624. doi.org/10.1007/s11695-009-9814-x
- Inadera H. *Int J Med Sci* 2008; 5(5): 248-262. doi.org/10.7150/ijms.5.248
- Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C & G. Marchesini. *J Hepatol* 2010; 53: 372-384. doi.org/10.1016/j.jhep.2010.04.008
- Asrih M, Jornayvaz FR. *J Endocrinol* 2013; 218(3): R25-36. doi.org/10.1530/JOE-13-0201
- Butrova SA. *Rus Med Zhurn* 2001; 9(2): 56-60.
- Anty R, Lemoine M. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35(1): 10-20. doi.org/10.1016/S2210-7401(11)70003-1
- Koca SS, Bahcecioglu IH, Poyrazoglu OK, et al. *Inflammation* 2008;31(2): 91-98. doi.org/10.1007/s10753-007-9053-z
- Fernández-Real JM, Ricart W. *Diabetologia* 1999; 42(11): 1367-1374. doi.org/10.1007/s001250051451
- Pickup JC, Crook MA. *Diabetologia* 1998; 41(10): 1241-1248. doi.org/10.1007/s001250051058
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, et al. *JAMA* 2001; 286(3): 327-334. doi.org/10.1001/jama.286.3.327
- Koh KK, Han SH, Quon MJ. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(11): 1978-1985. doi.org/10.1016/j.jacc.2005.06.082
- Sookoian S, Pirola CJ. *Clin Mol Hepatol* 2017; 23(1): 1-12. doi: 10.3350/emh.2016.0109.
- Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, et al. *PLoS Genet* 2011; 7: e1001324. doi.org/10.1371/journal.pgen.1001324
- Dongiovanni P, Valenti L. *Metabolism* 2016; 65(8): 1026-1037. doi.org/10.1016/j.metabol.2015.08.018
- Stefan N, Schafer S, Machicao F. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4238-4243. doi.org/10.1210/jc.2004-2479
- Anna Kotronen, Hannele Yki-Jarvinen, Anna Aminoff, et al. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 593-602. doi.org/10.1530/EJE-08-0900
- Nimanthan Mark Wilfred de Alwis, Christopher Paul Day. *Semin Liver Dis* 2007; 27(1): 44-54.
- Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, et al. *Gastroenterology* 2002; 122(2): 274-280. doi.org/10.1053/gast.2002.31065
- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 3195-3199. doi.org/10.1073/pnas.94.4.1402
- Rydlovskaja AV, Simbircev AS. *Citokiny i Vospalenie* 2005; 4(3): 4-10.
- Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. *Hum Mol Genet* 1992; 1: 353. doi.org/10.1093/hmg/1.5.353
- Rocio Aller, Daniel Antonio de Luis, Olatz Izaola, et al. *Ann Hepatology* 2010; 9(4): 439-444.
- Chalasanani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. *Hepatology* 2012; 55(6): 2005-2023. doi.org/10.1002/hep.25762
- Matthews DR, Hoske JP, Rudenski AS, et al. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419. doi.org/10.1007/BF00280883
- Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2402-2410. doi.org/10.1210/jcem.85.7.6661
- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. *BioTechniques* 1991; 10: 506-513.
- Xiaoxiang Guan, Zhongxin Liao, Hongxia Ma, et al. *BMC Cancer* 2011; 11: 447-556. doi.org/10.1186/1471-2407-11-447

28. Armitage P, Berry G. Statistical methods in medical research. *Blackwell Scientific Publications*, 1994: 620 p.
29. Trayhurn P, Wood IS. *Br J Nutr* 2004; 92: 347-355. doi.org/10.1079/BJN20041213
30. Garcia-Compean DI, Jaquez-Quintana JO, Lavalle-Gonzalez FJ, et al. *Ann Hepatol* 2014; 13(4): 403-410.
31. Mastrandrea L, Yu J, Behrens T, et al. *Diabetes Care* 2009; 39(7): 1244-1249. doi.org/10.2337/dc09-0054
32. Phillips CM, Perry IJ. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: E1610-E1619. doi.org/10.1210/jc.2013-2038
33. Febbraio MA, Steensberg A, Starkie RL, et al. *Metabolism* 2003; 52(7): 939-944. doi.org/10.1016/S0026-0495(03)00105-7
34. Carey AL, Bruce CR, Sacchetti M, et al. *Diabetologia* 2004; 47(6): 1029-1037. doi.org/10.1007/s00125-004-1403-x
35. Deřva MJu. *Visn Probl Biologii i Medycyny* 2013; 2(103): 139-144.
36. Marousi S, Antonacopoulou A, Kalofonos H, et al. *Stroke research and treatment* 2011; 2011: 414-420.
37. Seitova GN, Bukreeva EB, Bujkin SV, et al. *Bulleten' Sibirskoj Mediciny* 2004; 2: 29-34.
38. Yael T. Joffe, Lize van der Merwe, Madelaine Carstens, et al. *J Nutr Biochem Mol Genet Mechanisms* 2010; 140: 901-907.
39. Liu J, Grundy SM, Wang W, et al. *Am Heart J* 2007; 153: 552-558. doi.org/10.1016/j.ahj.2007.01.003
40. de Luis DA, Aller R, Izaola O, et al. *Med Clin (Barc)* 2007; 129(11): 401-404. doi.org/10.1157/13110463
41. Sookoian SC, Gonzalez C, Pirola CI. *Obes Res* 2005; 13(12): 2122-2131. doi.org/10.1038/oby.2005.263
42. Pereira TV, Rudnicki M, Franco RF, et al. *Am Heart J* 2007; 153: 821-830. doi.org/10.1016/j.ahj.2007.02.031
43. Skoog T, Dichtl W, Boquist S, et al. *Eur Heart J* 2002; 23: 376-383. doi.org/10.1053/euhj.2001.2805
44. Bouma G, Xia B, Crusius JB, et al. *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 391-396. doi.org/10.1111/j.1365-2249.1996.tb08292.x
45. van Heel DA, Udalova IA, de Silva AP, et al. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 1281-1289. doi.org/10.1093/hmg/11.11.1281
46. Abraham LJ, Kroeger KM. *J Leukoc Biol* 1999; 66(4): 562-566. doi.org/10.1002/jlb.66.4.562
47. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4854-4858. doi.org/10.1073/pnas.91.11.4854
48. Musso G, Gambino R, Cassader M. *Obesity Reviews* 2010; 11(6): 430-445. doi.org/10.1111/j.1467-789X.2009.00657.x

**МЕТАБОЛІЧНИЙ ДИСБАЛАНС У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ ЗА НАЯВНОСТІ ТА ВІДСУТНОСТІ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ З УРАХУВАННЯМ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ - 308 G>A ГЕНА ФАКТОРУ НЕКРОЗУ ПУХЛИН- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )**

Караченцев Ю. І.<sup>1,2</sup>, Полторак В. В.<sup>1</sup>, Кравчун Н. О.<sup>1</sup>, Атраментова Л. О.<sup>4</sup>, Горшунська М. Ю.<sup>2</sup>, Тиженко Т. В.<sup>1</sup>, Красова Н. С.<sup>1</sup>, Лещенко Ж. А.<sup>1</sup>, Йенсен Е.<sup>3</sup>, Почерняев А. К.<sup>1</sup>, Гладких О. І.<sup>1</sup>, Черняева А. О.<sup>1</sup>, Плохотніченко О. О.<sup>1</sup>, Міщенко Т. В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна;

<sup>3</sup> Національний інститут охорони здоров'я та довкілля, Білтховен, Нідерланди;

<sup>4</sup> Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна  
admin@iper.com.ua

По поліморфізму - 308 G>A гена фактору некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) генотиповані 118 хворих на цукровий діабет 2 типу і 50 здорових мешканців м. Харкова. Частоти алелей у хворих ( $p_G = 0,858$ ,  $q_A = 0,142$ ) і здорових ( $p_G = 0,930$ ,  $q_A = 0,070$ ) значущо не відрізняються. Стратифікація діабетичного загалу за наявності та відсутності НАЖХП засвідчила більш виразне підвищення циркуляторних рівнів ФНП- $\alpha$  за наявності НАЖХП, що обґрунтовує доцільність використання цього показника для подальшого застосування в якості діагностичного параметру вищезначеного ускладнення. В нашому дослідженні не спостерігалось зв'язку між TNF $\alpha$ -308 поліморфізмом і ризиком розвитку НАЖХП. Тим не менш, ми виявили тенденцію шкідливих ефектів -308A-алелю на рівні ліпідів у хворих на ЦД 2 типу за наявності НАЖХП, припускаючи, що TNF $\alpha$ -308 A-алель може сприяти резистентності до інсуліну у хворих, що, у свою чергу, може збільшити ризик ускладнень.

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

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ДИСБАЛАНС У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА ПРИ НАЛИЧИИ ИЛИ ОТСУТСТВИИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ С УЧЕТОМ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА - 308 G>A ГЕНА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )**

Караченцев Ю. И.<sup>1,2</sup>, Полтораки В. В.<sup>1</sup>, Кравчун Н. А.<sup>1</sup>, Атраментова Л. А.<sup>4</sup>, Горшунская М. Ю.<sup>2</sup>, Тыжненко Т. В.<sup>1</sup>, Красова Н. С.<sup>1</sup>, Лещенко Ж. А.<sup>1</sup>, Йенсен Е.<sup>3</sup>, Почерняев А. К.<sup>1</sup>, Гладких А. И.<sup>1</sup>, Черняева А. А.<sup>1</sup>, Плохотниченко О. А.<sup>1</sup>, Мищенко Т. В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина;

<sup>3</sup> Национальный институт охраны здоровья и окружающей среды, г. Билтховен, Нидерланды;

<sup>4</sup> Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, г. Харьков, Украина  
admin@ipep.com.ua

По полиморфизму- 308 G>A гена фактора некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) генотиповано 118 больных сахарным диабетом 2 типа и 50 здоровых жителей г. Харьков. Частоты аллелей у больных ( $p_G = 0,858$ ,  $q_A = 0,142$ ) и здоровых ( $p_G = 0,930$ ,  $q_A = 0,070$ ) значимо не отличаются. Стратификация больных сахарным диабетом 2 типа по наличию или отсутствию неалкогольной жировой болезни печени показала более отчетливое повышение циркуляторных уровней ФНО- $\alpha$  при наличии НАЖБП, что обосновывает целесообразность использования этого показателя для дальнейшего применения в качестве диагностического параметра вышеуказанного осложнения. В нашем исследовании не наблюдалось связи между TNF $\alpha$ -308 полиморфизмом и риском развития НАЖХП. Тем не менее, мы обнаружили тенденцию вредных эффектов -308A-аллеля на уровни липидов у больных СД 2 типа при наличии НАЖХП, предполагая, что TNF $\alpha$ -308 A-аллель может способствовать резистентности к инсулину у больных, что, в свою очередь, может увеличить риск осложнений.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, ген фактора некроза опухолей- $\alpha$ , сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени.

**METABOLIC DISBALANCE IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE TAKING INTO ACCOUNT THE SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM -308 G/A OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF) GENE**

Y. I. Karachentsev<sup>1,2</sup>, V. V. Poltorak<sup>1</sup>, N. O. Kravchun<sup>1</sup>, L. O. Atramentova<sup>4</sup>, M. Y. Gorshunskaya<sup>2</sup>, T. V. Tyzhnenko<sup>1</sup>, N. S. Krasova<sup>1</sup>, Zh. A. Leshchenko<sup>1</sup>, E. Jansen<sup>3</sup>, A. K. Pochernyayev<sup>1</sup>, A. I. Gladkikh<sup>1</sup>, A. A. Cherniaieva<sup>1</sup>, O. O. Plohotnichenko<sup>1</sup>, T. V. Mishchenko<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Kharkiv Postgraduate Medical Academy, Kharkiv, Ukraine;

<sup>3</sup> National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands;

<sup>4</sup> V. N. Karazin Kharkiv national university, Kharkiv, Ukraine  
admin@ipep.com.ua

Polymorphism of tumor necrosis factor-alpha gene (TNF) in the promoter region - 308 G/A was studied. For this research we used blood samples of 118 patients with T2DM and 50 healthy inhabitants of Kharkiv. There were no significant differences in allele frequencies for single nucleotide polymorphism -308 G/A in patients with type 2 diabetes ( $p_G = 0,858$ ,  $q_A = 0,142$ ) and healthy individuals ( $p_G = 0,930$ ,  $q_A = 0,070$ ). Stratification of the type 2 diabetic patients in the presence and absence of NAFLD showed a more pronounced increase in circulatory levels of TNF- $\alpha$  in patients with NAFLD. The obtained data have proved promising for further research, which should be use this indicator as a diagnostic parameter of the above complication. In our study, there was no relationship between TNF $\alpha$ -308 polymorphism and the risk of NAFLD. Nevertheless, we have found a tendency for the harmful effects of the - 308A allele on lipid levels in patients with type 2 diabetes in the presence of NAFLD, suggesting that TNF $\alpha$ -308 A-alleles may contribute to insulin resistance in patients, which in turn may increase the risk of complications.

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