

УДК 616.735:577.112:577.115.3:616.36

PPARG- залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії хворих на цукровий діабет II типу

С. О. Риков¹, д-р мед. наук, професор; Л. В. Натрус², д-р мед. наук, професор;
М. Ю. Биховець¹, аспірант

¹ Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика;
Київ (Україна)

² Національний медичний університет імені О. О. Богомольця;
Київ (Україна)

E-mail: Lnatus777@gmail.com

Ключові слова:

діабетична ретинопатія, цукровий діабет II типу, L-FABP, жирні кислоти, мембрана еритроцита, ліпідний обмін

PPAR γ , фізично взаємодіють із *FABP*, тому здатність *FABP* модулювати ліпідну сигналізацію може бути використана для розробки ліків, вдосконалення терапевтичних чи профілактичних засобів метаболічних захворювань, а також для контролю активності їхніх мішеней, таких як *PPAR*

Мета: дослідити *PPARG*-залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії хворих на цукровий діабет II типу

Матеріал та методи. Дослідження охоплювало 101 хворого (101 око) із цукровим діабетом II типу (ЦД II), 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 зіставні із пацієнтами за статтю, віком, індексом маси тіла. Поліморфізм гену визначали за допомогою ПЛР-реал тайм на автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500, вміст L-FABP визначали в сироватці крові методом ELISA Human L-FABP «Nucult Biotech».

Висновки: у хворих на ЦД II із різним *PPARG*-залежним фенотипом виявлене достовірне коливання вмісту жирних кислот (ЖК) у складі мембран еритроцитів. У носіїв дикого генотипу вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР різко підвищувався в 1,4 рази ($p < 0,05$) відносно КГ, а із прогресуванням ДР зменшувався в 7,5 рази ($p < 0,05$). У носіїв алелі 12Ala вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був в 2 рази меншим ніж в КГ ($p < 0,05$) і поступово зменшувався із прогресуванням ДР. У носіїв дикого генотипу із прогресуванням ДР спостерігається поступове недостовірне підвищення протеїну L-FABP. У носіїв алелі 12Ala виникнення ДР супроводжується чотирикратним підвищенням ($p < 0,05$) шаперону, а прогресування ДР супроводжується поступовим зменшенням його вмісту.

Актуальність. Діабетична ретинопатія (ДР) у всьому світі є першою причиною сліпоти серед дорослих працездатного віку [1, 2]. Ці показники у поєднанні з прогнозованим зростанням пацієнтів з цукровим діабетом II типу (ЦД II) обумовлюють серйозність ДР та поширеність захворювання, що загрожує зору. Дані останніх клінічних досліджень показують, що дисліпідемія є важливим, але часто недооціненим фактором розвитку ДР [3]. Було показано, що у пацієнтів з діабетичною дисліпідемією спостерігається більша частота ушкодження сітківки [4]. Однак, на відміну від макро-васкулярних ускладнень, де доведена пряма кореляція між патологією та рівнем ліпідів плазми [5], роль ліпідів при мікросудинних ускладненнях досі є суперечливою та інтенсивно вивчається. Є дані, що пацієнти з ЦД II, які отримували фенофібрат, симвастатин, для контролю рівня тригліцеридів та холестерину відповідно, мали зменшення прогресування ДР за 4 роки [6]. З цієї причини синтетичні ліганди *PPAR γ* , такі як тіазолідиніони (TZD), використовують для лікування ЦД II, але поряд з їх властивістю підвищувати чутливість

організму до інсуліну, мають і зворотній бік, оскільки сприяють збільшенню жиру, а довгострокові наслідки цього взагалі ще невідомі [7]. До того ж, механізм дії TZD, причини їх неоднозначної ефективності, інколи різноспрямовані ефекти у пацієнтів також не з'ясовані [8, 9].

Ядерний транскрипційний фактор (peroxisome proliferator-activated receptor, *PPAR*) відноситься до сімейства ядерних гормональних рецепторів, що керують активністю генів ключових ферментів жирового та вуглеводного обміну і забезпечують зв'язок між факторами зовнішнього середовища та внутрішніми механізмами регуляції енергетичного гомеостазу. *PPAR γ* – викликає у дослідників найбільший інтерес, як приваблива терапевтична мішень для впливу на захворювання, важливим патогенетичним фактором яких є дисліпідемія та інсулінорезистентність - метаболічний синдром (МС), цукровий діабет II типу (ЦД II), ожиріння тощо [9-11].

© Риков С. О., Натрус Л. В., Биховець М. Ю., 2019

Останнім часом інтенсивно досліджується вплив поліморфізмів гену PPAR на фенотипічні ознаки енергетичного метаболізму. Так, часткова «втрата функції» гену – мутація Pro12Ala, що є специфічною для PPAR γ 2, пов'язана зі зниженням індексу маси тіла (ІМТ), поліпшенням ліпідного профілю та чутливості до інсуліну [12, 13]. Мутація Pro115Gln, навпаки, робить PPAR γ суттєво активною, носії цієї мутації страждають ожирінням, але залишаються чутливими до інсуліну [14].

Як і члени сімейства рецепторів PPAR, внутрішньоклітинні білки, що зв'язують жирні кислоти (Fatty Acid Binding Protein, FABPs) отримують доступ до ядра за певних умов і потенційно націлюють жирні кислоти (ЖК) на фактори транскрипції [9]. Ліпідні шаперони FABP, як еволюційно старий механізм захисту клітини від надмірної кількості ЖК [15], можуть активно полегшувати транспортування ЖК в цитоплазмі до конкретних відділень у клітині, наприклад: до ліпідної краплі для зберігання; в ендоплазматичний ретикулум для сигналізації; обміну та синтезу мембран; до мітохондрій або пероксисом для окислення; до ядра для регуляції ліпідів транскрипції; або навіть поза клітини, щоб подавати сигнал аутокринним або паракринним способом [16]. За умов надмірного та постійного споживання висококалорійної їжі, зменшення енерговитрат, у сучасної людини, FABP можуть бути недостатніми для підтримки метаболічного гомеостазу, і тоді їх присутність сприятиме формуванню ожиріння, діабету, дисліпідемії, атеросклерозу та невідповідних імунних реакцій [17, 18, 19].

PPAR γ фізично взаємодіють із FABP, особливо із печінковою формою (L-FABP), і вважається, що L-FABP є коактиватором у регуляції генів, опосередкованих PPAR, отже здатність FABP модулювати ліпідну сигналізацію може бути використана для розробки ліків, вдосконалення терапевтичних чи профілактичних засобів метаболічних захворювань, а також для контролю активності їхніх мішеней, таких як рецептори ядерних гормонів [9, 20]. Але залишається не з'ясованим, яким чином експресуються регуляторні протеїни L-FABP у хворих залежно від їх поліморфізму гену PPAR γ , що визначає особливості порушення ліпідного метаболізму та відкриває шлях до його корекції.

Мета: дослідити PPAR γ -залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії хворих на цукровий діабет II типу.

Матеріал та методи

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

Усім хворим були виконані загальноприйняті офтальмологічні обстеження: візометрія, рефрактометрія, статична периметрія Humphrey, тонометрія, біомікроскопія, за необхідністю – гоніоскопія, офтальмоскопія лінзою Goldman, оптична когерентна томо-

графія на OCT DRI Triton (Topcon, Японія) 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 три групи спостереження, які відрізнялися ступенем ушкодження: ДР-1 група (30 хворих, 30 очей) до якої включили пацієнтів із початковою, помірною та тяжкою непроліферативною ДР, ДР-2 групу (34 хворих, 34 ока), яку склали пацієнти із початковою, помірною та тяжкою проліферативною ДР та ДР-3 групу (37 хворих, 37 очей), яку склали пацієнти із прогресуючою проліферативною ДР. У всіх пацієнтів досліджувався 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 газорідинну 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 «Diagnosis Zrt», (Угорщина). Вміст L-FABP визначали в сироватці крові методом ELISA Human L-FABP «Nycult Biotech». Дослідження складу ЖК в мембранах еритроцитів проводили стандартним методом газорідинної хроматографії після виділення еритроцитарної маси із венозної крові. Було ідентифіковано 9 найінформативніших ЖК, які визначали як 100%. Розраховували у відсотках відносний вміст кожної ЖК, а також суму фракцій. Із них визначені насичені жирні кислоти (НЖК) – міристинова C14:0, пентодеканова C15:0, пальмітинова C16:0, маргарінова C17:0, стеаринова C18:0, та ненасичені жирні кислоти (ННЖК) – олеїнова C18:1, лінолева C18:2, ліноленова C18:3, арахідонова C20:4. Окремо враховували, що C18:2, C18:3, C20:4 – вважаються незамінними і характеризуються як поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК).

Для молекулярно-генетичного дослідження була використана венозна кров, забір проводили у стерильних умовах у вакутайнери («Sarstedt», Німеччина) об'ємом 2,5 мл, що містили (EDTA, 11,7 мМ) як антикоагулянт. Пробірки заморожували при температурі -70° С. Для виділення геномної ДНК використовували набори PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA, виробник INVITROGEN (США). На першому етапі проводили інкубацію з Digestion Buffer та протеїназою K і шляхом центрифугування позбавлялись 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 – AACTCTGGGAGATTCTCCTATTGAC[C/G] CAGAAAGCGATTCTTCACTGATAC, поліморфний кодон CCA/GCA. Такий поліморфізм являє 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 C вважається «дикою» алеллю, 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 проводили 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 оброблялись одержані з ампліфікатора дані.

Статистичний аналіз даних виконаний за допомогою пакету IBM SPSS Statistics 23 та програми MedStat. Перевірку розподілу кількісних показників по всій вибірці даних на відповідність закону Гауса провели за допомогою одновибіркового 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 (P25) та 75-й (P75), які визначали в таблицях [QI÷QIII]. 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 $p < 0,05$.

Таблиця 2. Характеристика груп порівняння за віком та статтю і тривалістю ЦД II.

Примітка: Визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса, параметр «стать» порівнювали в таблиці спряженості «k*m» використовували критерій χ^2 .

Показники	КГ n= 40	ДР-1 n= 30	ДР-2 n= 34	ДР-3 n= 37	Значущість відмінностей
Вік, роки Me; [QI÷QIII] (Максимум-Мінімум)	57 [50-64,5] (22-79)	60 [56-76] (44-81)	63 [58-66] (44-77)	65 [60,5-73,0] (50-84)	$P_{\text{кГ-др1}} > 0,05$ $P_{\text{др1-др2}} > 0,05$ $P_{\text{др2-др3}} > 0,05$ $P_{\text{др1-др3}} > 0,05$ $P_{\text{кГ-др2}} > 0,05$ $P_{\text{кГ-др3}} < 0,05^*$
Тривалість ЦД2, роки Me; [QI÷QIII] (Максимум-Мінімум)	0	9,5 [4-17] (4-37)	15 [10-20] (4-30)	20 [14-25] (3-35)	$P_{\text{др1-др2}} < 0,05^*$ $P_{\text{др2-др3}} > 0,05$ $P_{\text{др1-др3}} < 0,05^*$
Стать, жінки, % Доля в групі	65% 26(40)	56% 17(30)	55% 19(34)	56,7% 21(37)	χ^2 $P = 0,974$

Таблиця 1. Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів гену PPARG в дослідних групах, % (кількість осіб)

Генетичний маркер/ група	КГ n= 40	ДР-1 n= 30	ДР-2 n= 34	ДР-3 n= 37
C/C	55 (22)	63,3 (19)	61,76 (21)	78,38 (23)
C/G	37,5 (15)	36,67 (11)	35,29 (12)	21,62 (8)
G/G	7,5 (3)	0	2,94 (1)	0
C	73,75 (59)	81,67 (49)	79,41 (54)	89,19 (66)
G	26,25 (21)	18,33 (11)	20,59 (14)	10,81 (8)*

* - відмінність із відповідним показником КГ ($P < 0,05$).

Результати та їх обговорення

Існує багато епідеміологічних досліджень відносно частоти гетерозиготного та гомозиготного поліморфізму гену PPARG серед різних груп населення та асоціації їх із метаболічними порушеннями [19]. За нашими даними, у КГ носіями алелі 12Ala були 18 осіб (45%), з них 3 (7,5%) - носії гомозиготи. Серед хворих на ЦД II носіїв алелі 12Ala було 33 особи (33%), із них лише у 1 (1%) виявлена мінорна гомозигота. За даними інших дослідників [21, 22], в українській популяції пацієнти із метаболічними розладами мають переважно дикий генотип Pro12Pro, і навіть висловлена думка про протекторну роль алелі 12Ala у розвитку ЦД та МС. Аналіз розподілу частоти алелей і генотипів гену PPARG в групах пацієнтів із різними стадіями ДР (табл. 1) також показав зменшення носіїв поліморфізму гену в ДР-1 та ДР-2 у порівнянні з КГ, але достовірна різниця виявлена лише між КГ та ДР-3.

Для вивчення факторів, що можуть впливати на розвиток ЦД II і прогресування ДР було проведено порівняння параметрів віку, статі, маси, індексу маси тіла (ІМТ) у хворих із ЦД II та їх однолітків без діабету (табл. 2). За рахунок того, що 3 особи в КГ були мо-

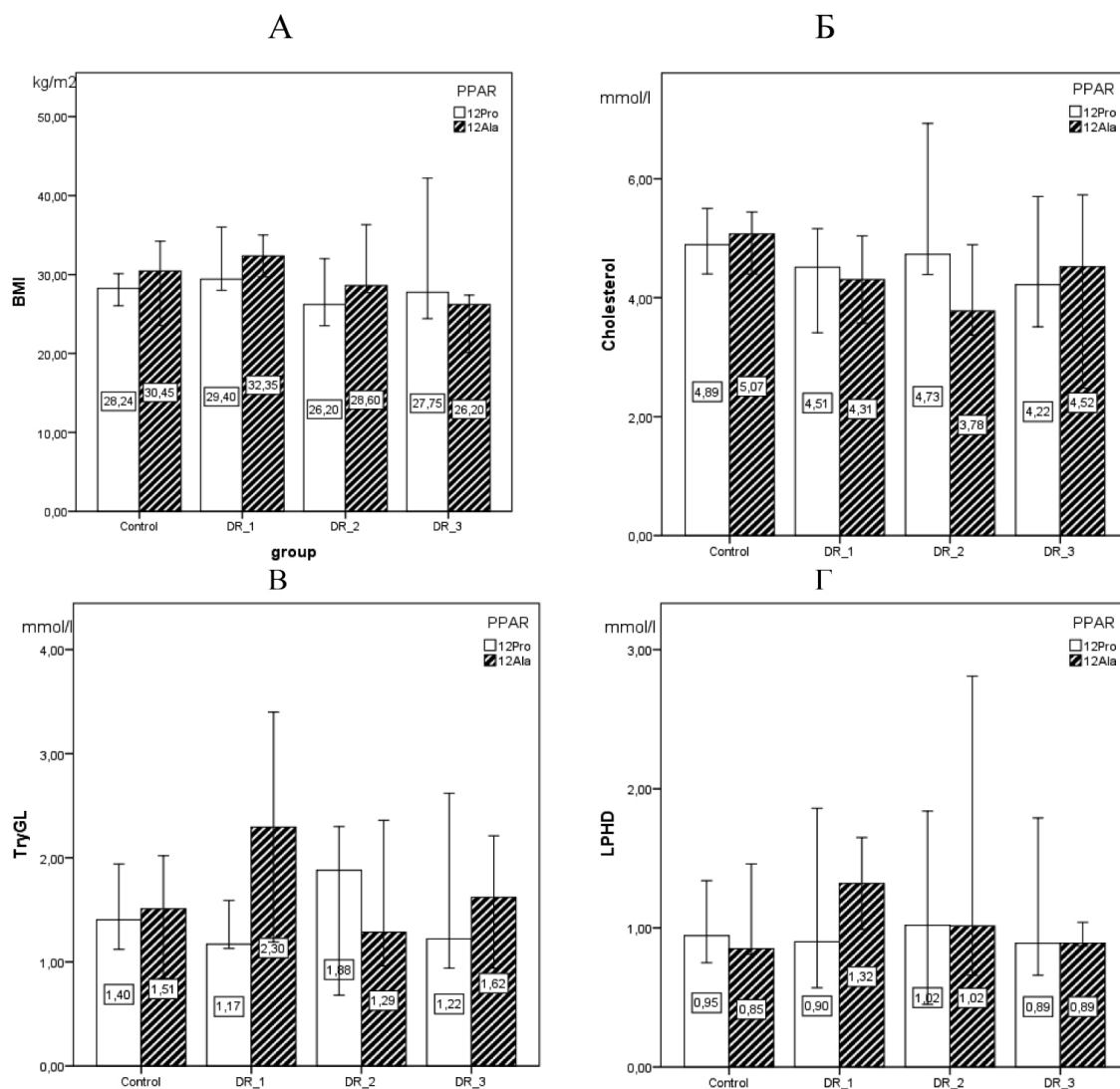


Рис. 1. Показники ІМТ (А), загального холестерину (Б), тригліцеридів (В), ЛПВЩ (Г) в досліджуваних групах: Контроль, ДР-1, ДР-2, ДР-3 в залежності від генотипу PPARG (світлі стовпчики – носії генотипу Pro12Pro, темні – носії алелі 12Ala).

лодше 30-річного віку, виявилась вірогідна відмінність ($p < 0,05$) віку в КГ та групі пацієнтів з розвинутою ДР-3. Виявлена кореляція ($r = 0,401$, $p < 0,01$) тяжкості ДР за показником шкали ETDRS та тривалістю діабету. Вивчення гендерного складу груп показало переважання жінок в КГ, але достовірних відмінностей не було виявлено. Аналіз ІМТ (рис. 1) показав, що не виявлено очікуваної суттєвої відмінності показника в групі КГ та пацієнтів з ЦД II і особливо у хворих із різними стадіями ДР у бік зростання тривалості і тяжкості ЦД II та ожиріння, навпаки, найбільший показник ми спостерігали в ДР-1 29,3 кг/м² [37,2-32,3] із поступовим зменшенням. В КГ також був високий ІМТ, але ми навмисно не прийняли критерієм виключення ІМТ ≥ 25 кг/м² для більш достовірного порівняння впливів на метаболічний стан осіб за віком, видом діяльності та способом життя.

Аналіз генетичної гетерогенності показав, що ІМТ у носіїв алелі 12Ala був більш високим як у КГ, так і у пацієнтів з ЦД, хоча відмінності недостовірні. Виключення складали пацієнти групи ДР-3, де носії поліморфізму мали меншу вагу. Як ми вже вказували, в літературі з цього приводу суперечливі дані. Так, дослідники [21] також виявили підвищення маси тіла у носіїв поліморфізму, але є дані про протекторну роль алелі 12Ala від ожиріння [13]. PPARG-залежний аналіз лабораторних показників ліпідограми в розрізі відмінностей стадій ДР був різноспрямованим, але не показав достовірних коливань. В наших попередніх роботах ми вказували на відсутність достовірної різниці ліпідограми в групах із різними стадіями ДР, але у відношенні генетичної гетерогенності є деякі розбіжності. Як приклад, ми навели лише три показники. Загальний холестерин у носіїв поліморфізму в групах ДР-1 та ДР-2 був знижений, а в КГ та ДР-3 підвищений. Од-

накову динаміку відобразили тригліцериди та ЛПВЩ. В групі ДР-1 вказані показники підвищувалися лише у носіїв алелі 12A1a, проте без достовірної різниці. Можливо, на початку розвитку ЦД II більшу реактивність до порушення виявляють саме транспортери жирних кислот плазми, і наявність мутації є більш вразливою ланкою пошкодження.

Більш чутливим вважається аналіз вмісту жирних кислот (ЖК) у мембрані еритроцита, оскільки він як біологічна модель віддзеркалює вбудовування ЖК в мембрану клітин організму [20, 23]. У наших попередніх роботах, аналіз дев'яти найбільш інформативних ЖК в групах хворих із різними стадіями ДР у порівнянні з групою здорових осіб показав, що стан ліпідного метаболізму у пацієнтів характеризувався суттєвою різницею із достовірним підвищенням ступеня «насиченості», що є ознакою патологічного процесу, оскільки накопичення насичених ЖК у клітині, особливо у мембрані, суттєво змінює її властивості, пластичність, спроможність до ендоцитозу, реактивність до акцепції ліганду, латерального пересування рецепторних рафтів та інтегральних протеїнів, що зменшує відповідь на цитокіни та загальну міжклітинну взаємодію. В групах ДР-1 та ДР-3 спостерігалось підвищення в 1,5-2 рази ($p < 0,05$) вмісту насичених ЖК (НЖК) і відповідне зниження ненасичених ЖК (ННЖК) за рахунок поліненасичених ЖК, а в групі ДР-2 спостерігався практично рівний вміст НЖК та ННЖК. Із прогресуванням ДР виявлена тенденція до зниження вмісту міристинової і арахідонової ЖК, та підвищення стеаринової і олеїнової ЖК.

Відповідний аналіз вмісту ЖК в мембранах еритроцитів залежно від PPAR γ - залежного фенотипу показав ряд відмінностей у пацієнтів з ДР та КГ (рис. 2). У КГ вміст ЖК практично не відрізнявся в залежності від генотипу, лише в складі ненасичених ЖК виявилася тенденція ($p > 0,05$) серед носіїв алелі 12A1a до підвищення лінолевої кислоти за рахунок зниження вмісту олеїнової та арахідонової ЖК. На відміну від КГ, у пацієнтів усі мінорні насичені ЖК (міристинова С 14:0, пентадеканова С 15:0, маргарінова С 17:0) достовірно переважали (максимально в ДР-1 і поступово зменшувалися в ДР-3), але стійке підвищення відбувалося за рахунок носіїв поліморфізму. В групі ДР-1 підвищення мінорних насичених ЖК в групі носіїв алелі 12A1a було в 1,6 рази ($p < 0,05$) більше, ніж у носіїв дикого генотипу Pro12Pro та в 3 рази більше ($p < 0,05$) ніж в КГ. У складі мажорних НЖК достовірна різниця спостерігалася у вмісті пальмітинової С 16:0 ЖК в групі ДР-2, де у носіїв поліморфізму спостерігалось перевищення ЖК в 2,7 рази ($p < 0,05$) у порівнянні із пацієнтами з диким генотипом, вміст стеаринової ЖК суттєво не відрізнявся. Вміст олеїнової С 18:1 ЖК у пацієнтів характеризувався коливанням, але воно було притаманне лише носіям генотипу Pro12Pro, у яких вміст олеїнової ЖК був найменшим в ДР-1 і найбільшим в ДР-3, а у носіїв поліморфізму вміст олеїнової

ЖК характеризувався стійким підвищенням незалежно від розвитку ускладнення ЦД II. Визначалося суттєве коливання вмісту лінолевої С 18:2 ЖК, особливо у носіїв дикого генотипу. В ДР-1 та ДР-3 вміст С 18:2 був меншим, ніж в КГ, а в ДР-2 вищим, ніж в КГ. В ДР-2 вміст лінолевої ЖК в 2 рази ($p < 0,05$) відрізнявся залежно від генотипу. У носіїв алелі 12A1a вміст лінолевої ЖК поступово підвищувався від ДР-1 до ДР-3. Спостерігали значну різницю вмісту арахідонової ЖК. Як ми визначили раніше, із прогресуванням ДР виявлено зниження вмісту С 20:4, але як видно з діаграми, у носіїв дикого генотипу загальний вміст арахідонової ЖК в групі ДР-1 підвищувався відносно КГ в 1,4 рази, в групі ДР-2 знижувався в 2 рази відносно КГ ($p < 0,05$), а в групі ДР-3 був в 4,5 рази меншим, ніж в КГ ($p < 0,05$). У носіїв поліморфізму також визначена чітка тенденція до зниження С 20:4 від ДР-1 до ДР-3, але не така критична і без підвищення в групі ДР-1.

В наших попередніх дослідженнях у пацієнтів із тривалим ЦД II, ускладненим ДР, ми виявили достовірне підвищення сироваткового рівня L-FABP. В групі ДР-1 L-FABP був в 1,5 рази ($p < 0,05$) вище, ніж в КГ. В групі ДР-2 спостерігали незначне зменшення показника, але він залишався в 1,3 рази більше КГ, а в групі ДР-3 знову виявили підвищення відносно КГ в 1,7 рази. Ми висловили думку, що зменшення експресії L-FABP в групі ДР-2 відображає адаптацію організму до високого рівня ЖК плазми і має стримуючий вплив на розвиток і прогресування ДР. Визначення зв'язку вмісту L-FABP із генотипом PPAR γ (рис.3) показало, що серед носіїв дикого генотипу хворих на ЦД II із прогресуванням ДР спостерігається поступове недостовірне підвищення протеїну. І навпаки, у носіїв алелі 12A1a виникнення ДР супроводжується чотирикратним підвищенням ($p < 0,05$) шаперону, а прогресування ДР супроводжується поступовим зменшенням його вмісту, хоча не досягає значень КГ. У осіб КГ носії поліморфізму мали меншу концентрацію L-FABP ($p > 0,05$) порівняно із носіями дикого генотипу.

Таким чином, виявлена суттєва розбіжність вмісту ЖК в мембранах клітин як основного енергетичного субстрату організму, а також важливого внутрішньоклітинного шаперону у осіб із різним PPAR γ - залежним фенотипом і різними стадіями ДР. Цей факт віддзеркалює фактори, що впливають на особливості розвитку метаболічних порушень, зокрема ЦД II, а також генетично детерміновану прихильність до розвитку мікросудинних ускладнень діабету.

В цікавому огляді Cock et al., провів аналіз досліджень впливу експресії PPAR γ від молекулярно-клітинного рівня до генетичних досліджень на тваринах, а також спостережень на людях і дійшов висновку, що дійсно, PPAR γ є не тільки головним регулятором адипогенезу *in vivo*, але і рушійною силою гомеостазу глюкози та ліпідів, яка координує важливу адаптивну реакцію [24] ефективного збереження і накопичення енергії у вигляді жирової каплі в адипоциті [7]. Але

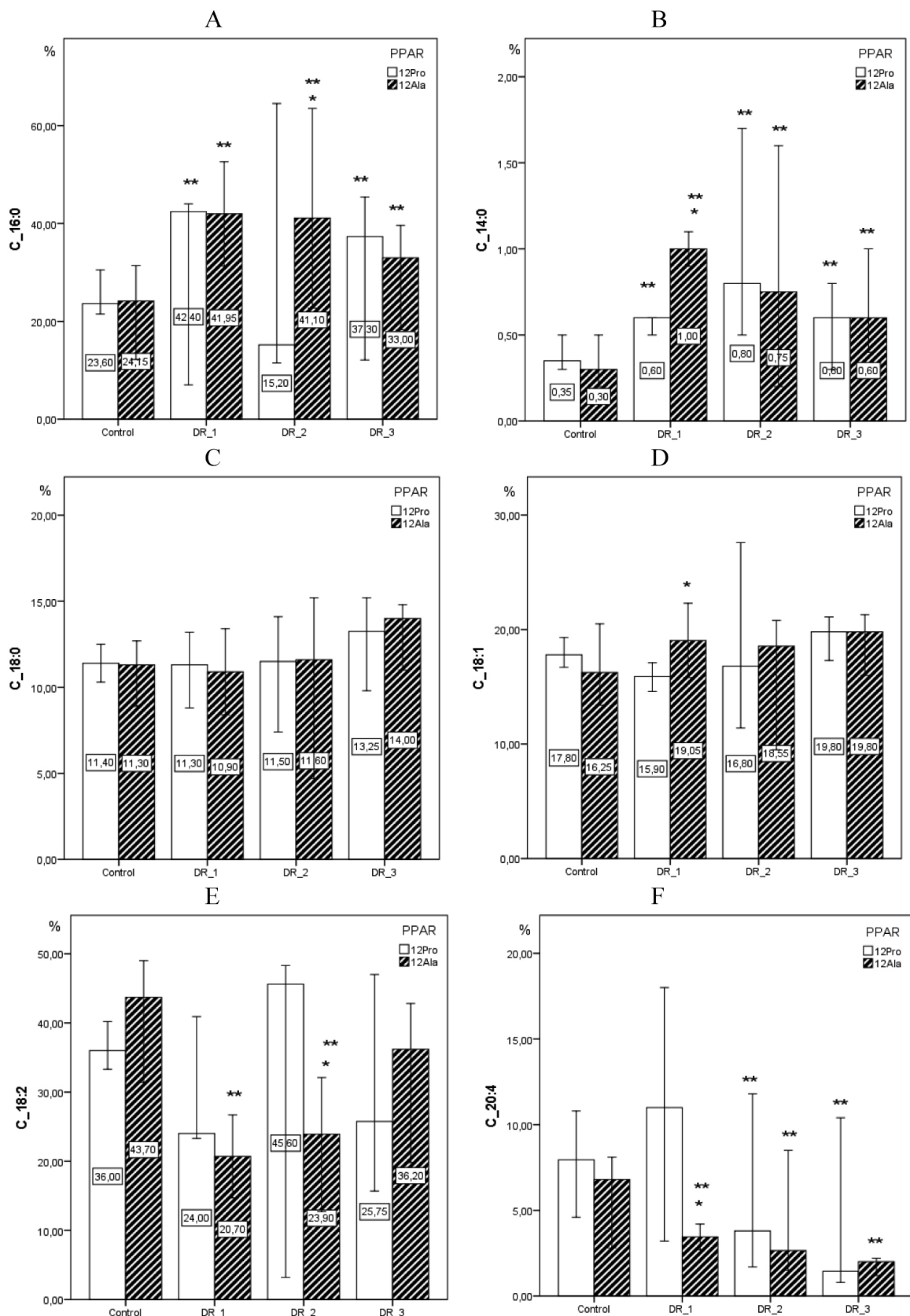


Рис. 2. Показники відносного вмісту ЖК в мембранах еритроцитів пацієнтів: пальмітинової (А), міристинової (В), стеаринової (С), олеїнової (D), лінолевої (Е), арахідонової (F) в досліджуваних групах: Контроль, ДР-1, ДР-2, ДР-3 в залежності від генотипу PPARG (світлі стовпчики – носії генотипу Pro12Pro, темні – носії алелі 12Ala). * - відмінність в групі ($p < 0,05$), ** - відмінність із відповідним показником КГ ($p < 0,05$).

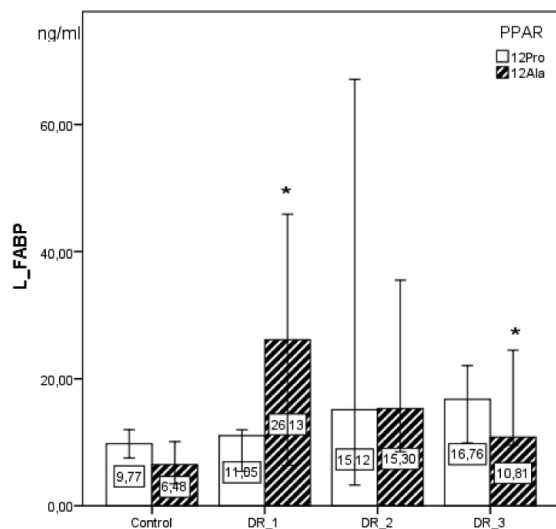


Рис. 3. Порівняння вмісту протеїну L-FABP в КГ в плазмі крові осіб КГ та пацієнтів з ДР різного ступеня в залежності від генотипу PPARG (світлі стовпчики – носії генотипу Pro12Pro, темні – носії алелі 12Ala). * – відмінність в групі ($p < 0,05$).

цей еволюційно збережений селекцією механізм є вкрай корисним за умов рідкого епізодичного отримання висококалорійної їжі на тлі базового недоїдання, що спонукало наших пращурів до постійного пошуку їжі. Часи змінилися, і за умов заможного і часто малорухливого способу життя колись сприятлива реакція збереження енергії перетворилася у згубну, що сприяє дисліпідемії і пов'язаним із цим ожирінню, метаболічному синдрому, ЦД II [17, 18].

Вивчення властивостей PPAR відкриває можливість використовувати цей механізм для розробки більш ефективних терапевтичних впливів при лікуванні метаболічних захворювань, оскільки повні агоністи PPAR γ , такі як TZD, покращують чутливість до інсуліну, толерантність до глюкози та ліпідемічний профіль у хворих на ЦД. Водночас посилена активність PPAR γ незмінно пов'язана із збільшенням жирової маси, субоптимальна активація PPAR γ або антагонізм PPAR γ є нейтральним або навіть зменшує вагу. Однак, на відміну від зв'язку між PPAR γ і жировою масою, активність PPAR γ не лінійно пов'язана з чутливістю до інсуліну, оскільки як інактивація, так і активація PPAR γ можуть посилити чутливість до інсуліну [7]. Цей нелінійний взаємозв'язок вказує на те, що чутливість до інсуліну є інтегрованим ефектом, який досягається, головним чином, модулюючи дії PPAR γ в жировій тканині з впливом на секрецію адипокіну та інших тканинно-специфічних відповідей PPAR γ .

Висновки

1. У хворих на ЦД II із різним PPARG-залежним фенотипом виявлене достовірне коливання вмісту ЖК у складі мембран еритроцитів. У носіїв дикого генотипу вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР

різко підвищувався в 1,4 рази ($p < 0,05$) відносно КГ, а із прогресуванням ДР зменшувався в 7,5 рази ($p < 0,05$). У носіїв алелі 12Ala вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був в 2 рази меншим, ніж в КГ ($p < 0,05$) і поступово зменшувався із прогресуванням ДР.

2. У носіїв дикого генотипу із прогресуванням ДР спостерігається поступове недостовірне підвищення протеїну L-FABP. У носіїв алелі 12Ala виникнення ДР супроводжується чотирикратним підвищенням ($p < 0,05$) шаперону, а прогресування ДР супроводжується поступовим зменшенням його вмісту.

3. Під час розробки терапевтичних схем із використанням агоністів та антагоністів PPARG ефектів, ліпотропних препаратів для впливу на транспорт ліпідів в плазмі необхідно враховувати PPARG-залежні особливості метаболізму, які визначають генетично детерміновані механізми порушення ліпідного обміну та розвиток ускладнень.

Література

1. Балашевич Л. И., Измайлов А. С. Диабетическая офтальмопатия. СПб: Человек; 2012. 396 с.
2. Пасечникова Н.В. Диабетическая макулопатия. Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения. Киев: из-во ООО «Карбон ЛТД». 2010. 154 с.
3. Hammer SS, Busik JV. The Role of Dyslipidemia in Diabetic Retinopathy Vision Res. 2017 Oct; 139: 228–236.
4. Sacks FM, Hermans MP, Fioretto P, et al. Association between plasma triglycerides and high-density lipoprotein cholesterol and microvascular kidney disease and retinopathy in type 2 diabetes mellitus: a global case-control study in 13 countries. Circulation. 2014 Mar 4;129(9):999-1008.
5. Persistent Effects of Intensive Glycemic Control on Retinopathy in Type 2 Diabetes in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) Follow-On Study. Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Follow-On (ACCORDION) Eye Study Group and the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Follow-On (ACCORDION) Study Group. Diabetes Care. 2016 Jul;39(7):1089-100.
6. Shiomi Y, Yamauchi T, Iwabu M, et al., A Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) α Agonist and PPAR γ Antagonist, Z-551, Ameliorates High-fat Diet-induced Obesity and Metabolic Disorders in Mice // The Journal of Biological Chemistry 2015, 290, 14567-14581.
7. Cock TA., Houten SM, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ : too much of a good thing causes harm. 2004.EMBO Rep. 5, 142–147.
8. Saremi L, Lotfipanah S, Mohammadi M, et al. The Pro-12Ala polymorphism in the PPAR γ 2 gene is not associated with an increased risk of NAFLD in Iranian patients with type 2 diabetes mellitus// Cell Mol Biol Lett. 2019; 24: 12.
9. Grimaldi PA. Peroxisome proliferator-activated receptors as sensors of fatty acids and derivatives. Cell Mol Life Sci. 2007 Oct;64(19-20):2459-64.
10. Lee YK, Park JE, Lee M, Hardwick J.P. Hepatic lipid homeostasis by peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 //Liver Res. 2018 Dec; 2(4): 209–215.
11. Ma X, Wang D, Zhao W, and Xu L. Deciphering the Roles of PPAR γ in Adipocytes via Dynamic Change of Transcription Complex//Front Endocrinol (Lausanne). 2018; 9: 473.

12. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M et al. A Pro12Ala substitution in the human PPAR γ 2 is associated with decreased receptor activity, improved insulin sensitivity, and lowered body mass index. *Nat Genet* 1998;20: 284–287.
13. Altshuler D et al. The common PPAR γ Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2000;26: 76–80. DOI:10.1038 / 79216
14. Hu E, Kim JB, Sarraf P, Spiegelman BM. Inhibition of adipogenesis through MAP-kinase mediated phosphorylation of PPAR γ . *Science* 1996. 274: 2100–2103.
15. Esteves A, Ehrlich R. Invertebrate intracellular fatty acid binding proteins. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2006 Mar-Apr;142(3-4):262-74. Epub 2006 Jan 19.
16. Choromańska B, Myśliwiec P, Dadan J et al. The clinical significance of fatty acid binding proteins// *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2011.- 24;65. P.759-63.
17. Boden G, Laakso M. Lipids and Glucose in Type 2 Diabetes. What is the cause and effect? *Diabetes Care* 2004 Sep; 27(9): 2253-2259.
18. Rykov SO., Bykhovets MY, Natrus LV. 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.
19. Rykov SO., Bykhovets MY, Natrus LV. The role of metabolic disorders and genotype in the diabetic retinopathy development (review) *Archive of Ophthalmology of Ukraine*. 2018. 6(3), 54-60.
20. Furuhashi M, Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets // *Nat Rev Drug Discov*. 2008 Jun; 7(6): 489.
21. Кайдашев И.П., Расин А.М., Шлыкова О.А., и др., Частота Про12Ала полиморфизма гена PPAR γ 2 в украинской популяции и его возможная связь с развитием метаболического синдрома. *Цитология и генетика*. 2007. №5 43-47. <http://cytgen.com/articles/4150043a.pdf>
22. Ziablytsev SV, Mokrii VY. Association between allele 12Pro of rs1801282 polymorphism gene ppar and diabetes mellitus type 2 // *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery* – 2016 - 3 (55) – с.34-38.
23. Petrenko OV, Natrus LV, Tavartkiladze K Features of blood cells' fatty acids content in patients with diabetic retinopathy. *Archive of Ophthalmology of Ukraine*. 2017.5. 3(19), 54-60.
24. Auwerx J. PPARgamma, the ultimate thrifty gene. *Diabetologia*. 1999 Sep;42(9):1033-49.

Автори засвідчують про відсутність конфлікту інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Поступила 07.11.2019

PPARG -зависимые различия энергетического субстрата у пациентов с разными стадиями диабетической ретинопатии и сахарным диабетом II типа

Рыков С. А., Натрус Л. В., Быховец М. Ю.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика; г. Киев (Украина)

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца; г. Киев (Украина)

Введение. PPAR γ физически взаимодействуют с FABP, поэтому способность FABP модулировать липидную сигнализацию может быть использована для разработки лекарств, совершенствования терапевтических или профилактических схем лечения метаболических заболеваний, а также для контроля активности их мишеней, таких как PPAR. **Цель:** изучить особенности показателей липидного обмена и жирно-кислотного спектра клеточных мембран, как важного энергетического субстрата, а также регуляторного белка L-FABP у больных с разной степенью диабетической ретинопатии в зависимости от полиморфизма гена PPAR-гамма. **Материал и методы.** В исследование включены 101 пациент (101 глаз) с сахарным диабетом II типа (СД II), у которых по результатам офтальмологического обследования по шкале ETDRS были диагностированы разные стадии диабетической ретинопатии (ДР). Контрольная группа (КГ) включала 40 человек без СД, сопоставимых с пациентами по полу, возрасту, индексу массы тела. Полиморфизм гена опре-

деляли с помощью ПЦР-реал тайм на автоматическом амплификаторе Gene Amp[®] PCR System 7500, содержание L-FABP определяли в сыворотке крови методом ELISA Human L-FABP «Hycult Biotech». **Выводы:** у пациентов с СД II с различным PPARG-зависимым фенотипом обнаружено достоверное колебание содержания ЖК в составе мембран эритроцитов. У носителей дикого генотипа содержание арахидоновой ЖК в начале развития ДР повышалось в 1,4 раза ($p < 0,05$) относительно КГ, а с прогрессированием ДР уменьшалось в 7,5 раз ($p < 0,05$). У носителей аллеля 12Ala содержание арахидоновой ЖК в начале развития ДР было в 2 раза меньше, чем в КГ ($p < 0,05$), а с прогрессированием ДР постепенно уменьшался. У носителей дикого генотипа с прогрессированием ДР наблюдается постепенное недостоверное повышение протеина L-FABP. У носителей аллеля 12Ala развитие ДР сопровождалось четырехкратным увеличением шаперона ($p < 0,05$), а прогрессирование ДР сопровождается постепенным уменьшением его содержания.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, сахарный диабет II типа, L-FABP, жирные кислоты, мембрана эритроцита, липидный обмен