

М.Ю. Горшунська, Ю.І. Караченцев\*, Н.О. Кравчун\*, Е. Йенсен\*\*, Л.О. Аграментова\*, О.І. Гладких\*, Н.С. Красова\*, Ж.А. Лещенко\*, Т.В. Тижненко\*, Ю.А. Опалейко\*, А.К. Почерняєв\*, В.В. Полторак\*

## ЕКСПРЕСИВНІСТЬ РЕАБІЛІТУЮЧИХ ЕФЕКТІВ ОМЕГА-3 ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2-ГО ТИПУ З ПОЛІМОРФНИМИ ВАРІАНТАМИ ГЕНА ПАРАОКСОНАЗИ

Харківська медична академія післядипломної освіти

\*ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України", Харків

\*\*Інститут охорони здоров'я та довкілля, Білтховен (Нідерланди)

### ВСТУП

Кардіоваскулярна патологія (КВП) посідає перші місця у топах захворюваності та смертності серед мешканців розвинутих країн. Вона також є основною причиною ранньої смертності у хворих на цукровий діабет (ЦД), кількість яких неухильно зростає в усіх країнах світу, у тому числі в Україні [1-3]. Деякі особливості дисметаболізму, властивого ЦД (надто ЦД 2-го типу), такі як ліпідні порушення, ендотеліальна дисфункція, тромбоз і глікування білків, збільшують ризик розвитку КВП [4].

Домінуючим патогенетичним механізмом вищезазначених порушень та основним вкладником до атеросклеротичного процесу є оксидативний стрес [5]. Його значення як важливого чинника високої частоти КВП у хворих на ЦД 2-го типу (передчасний атеросклероз – атеросклеропатія) зростає у зв'язку з гіперглікемією та інсулінорезистентністю, які створюють передумови до розвитку перманентного оксидативного стресу [6]. Наразі вважають, що окислення ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) в артеріальній стінці є однією з головних подій, що призводить до ініціації та прогресування атеросклерозу [5, 7]. Тому серед механізмів антиатерогенної дії ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) зростаючий інтерес викликає фермент параоксоназа, яка асоційована з ЛПВЩ [9-11].

Однонуклеотидний поліморфізм (ОНП) гена параоксонази (*PON1*), що призводить до зміни каталітичної дії цього ферменту, є несинонімічною заміною *Q192R* у Region Ex6+78A>G [12], пов'язаною з продукцією двох алоферментів,

які відрізняються амінокислотними залишками – глютаміновий (Q) або аргініновий (R) – у позиції 192 активного центра параоксонази [13]. Внаслідок поліморфізму *Q192R* варіює здатність ферменту запобігати окисленню ЛПНЩ *in vitro* з притаманною Q формі найбільшою захисною дією [14].

Автори праць, що демонструють асоціацію поліморфізму гена *PON1* із кардіоваскулярними (ішемічна хвороба серця – ІХС, інсульт) та ендокринними (ЦД 1-го та 2-го типів, синдром полікістозних яєчників) захворюваннями [15-17], відводять йому роль кандидатного гена атерогенної макросудинної патології [18-20], а алейні варіанти пропонують використовувати як маркери збільшеного ризику щодо цих захворювань.

Параоксоназа сироватки може проявляти декілька незалежних ефектів. Так, серед доведених спостерігають запобігання акумуляції та стимуляцію видалення окислених ліпідів із ЛПНЩ, а також детоксикацію низки лактонів, зокрема, гідроліз тіолактону гомоцистеїну [21]. Слід зауважити, що алофермент Q, якому притаманна більша протекторна дія щодо окислення ліпідів порівняно з R алоферментом, проявляє нижчу активність стосовно гідролізу тіолактонів.

Показано, що параоксоназа сироватки людини має властивість зменшувати вміст окислених ліпідів в атеросклеротичних бляшках сонної або коронарної артерій, отриманих під час шунтування у зв'язку з тяжким стенозом відповідних судин, причому алофермент Q мав більшу активність порівняно з R алоферментом [22]. Отже, доведено здатність параоксонази сиро-

ватки людини видаляти окислені ліпіди з атеросклеротичних утворень, вторинну до її гідролітичної (естеразоподібної та пероксидазоподібної) дії на специфічні перекиси ліпідів. Крім того, у хворих на ЦД 2-го типу визначено вплив генних варіантів параоксонази на ступінь ендотеліальної дисфункції, а саме, найменше порушення за індукованою кровобігом вазодилатацією спостерігалось у *QQ* гомозигот [11].

Існуючі дані дозволяють розглядати *Q192R* генотип *PON1* як важливий чинник ризику розвитку інсульту [17]. Так, за результатами генотипування 2634 осіб, залучених до дослідження CARE, відношення шансів розвитку інсульту склали 2,28 (95 % ДІ: від 1,38 до 3,79) у гетерозигот – носіїв *QR* і 2,47 (95 % ДІ: від 1,18 до 5,19) у гомозигот *RR* порівняно з *QQ* гомозиготами.

Доведено суттєвий внесок гена *PON1* до формування атерогенного потенціалу (збільшення товщини інтима-медіа а. carotis) комбінації генетичних варіантів прооксидантних алелей чотирьох генів, асоційованих з оксидативним стресом, а саме: поліморфізмів модифікуючої субоднини глутамат-цистеїн-лігази (*GCLM*)*C-58T*, мієлопероксидази *G-463A*, параоксонази *Q192R* і *NAD(p)H*-оксидази *p22phox c2421* [23].

Слід відзначити, що параоксоназа сироватки людини є одним із ферментів, якому притаманний фармакогенетичний поліморфізм, проте дані щодо фармакогенетичного значення поліморфізмів *PON1* є нечисленими та суперечливими [17, 24, 25]. Так, відсутні докази зв'язку між ОНП *Q192R* та ефективністю терапії хворих на ЦД 2-го типу правастатином у разі розвитку інсульту за доведеної протекторної дії *QQ* генотипу [17]. Сприятливий вплив симвастатину у пацієнтів із родинною гіперхолестеринемією на параоксоназну активність (підвищення) не залежав від генотипу і, на думку авторів, був пов'язаний з антиоксидантними властивостями препарату [24]. Водночас антиоксидантна дія дієтичного втручання (збагачена томатним соком дієта у здорових осіб похилого віку) зменшувала окислення ЛПНЩ і поліпшувала антиоксидантний стан (за рівнями малонового діальдегіду та залізовідновлюючої здатності плазми) лише у носіїв *R*-алелей, але не в осіб із *QQ* генотипом, а активність параоксонази збільшувалася незалежно від генотипу як у контрольних осіб, так і у піддослідній групі.

Індивідуалізація терапевтичного втручання

наголошується вимогами сучасного ведення хворих, зокрема, на ЦД 2-го типу [26]. Визначення фармакогенетичного підґрунтя, а саме, впливу генетичних варіацій кожної людини (експресія конкретного гена або ОНП у геномі) на реакцію організму на лікарські засоби є наріжним каменем для створення "індивідуалізованої медицини" майбутнього, яка забезпечує оптимізацію фармакотерапії (розробку раціональних фармпрепаратів та їх впровадження) [25, 27].

Раніше нами було визначено реабілітуючий вплив вживання омега-3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) на "новітні" складові серцево-судинного ризику у хворих на ЦД 2-го типу в стані суб- і декомпенсації [28, 29]. Отримані результати свідчать про значущі зміни у бік фізіологічної норми провідних характеристик діабету, таких як базальна гіперглікемія, підвищені рівні глікованого гемоглобіну та інсулінорезистентність, а також таких вагомих параметрів, пов'язаних із розвитком і прогресуванням серцево-судинної патології, як оксидативний стрес (рівні загального та відновленого глутатіону еритроцитів) і чинники, що мають відношення до хронічного запалення низької інтенсивності (порушений патерн адипоцитокінів, у першу чергу знижені циркулюючі рівні загального адипонектину та адипонектину високої молекулярної ваги, як і підвищені – остеопротегерину).

Мета даного дослідження полягала у визначенні характеру та фенотипної вираженості біологічних ефектів омега-3 ПНЖК у хворих на ЦД 2-го типу, стратифікованих за поліморфізмом *Q192R* гена параоксонази.

Репрезентативність дизайну дослідження ґрунтується на збігу домінуючих мішеневих систем, задіяних у реалізації біологічних ефектів омега-3 ПНЖК і формуванні фенотипної експресивності ОНП *Q192R* гена *PON1*. Більше того, порушення функціонування цих систем у хворих на ЦД 2-го типу детермінує зсуви гомеостазу та генез асоційованого високого атерогенного потенціалу (інсулінорезистентність, дисглікемія, дисліпідемія, оксидативний стрес).

## МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

З метою комплексної оцінки ефекту довголанцюгових омега-3 ПНЖК на параметри ЦД 2-го типу включно з біохімічними показниками серцево-судинного ризику ми провели обсте-

ження протягом 3-місячного стаціонарного та амбулаторного лікування в ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України" 61 хворого на ЦД 2-го типу (ч/ж: 34/27, тривалість захворювання  $6,29 \pm \pm 0,67$  року) з обтяженістю ІХС у 35 випадках, гіпертонічною хворобою у 46 випадках (їх поєднання верифіковано у 32 осіб). Крім того, діагностовано значну кількість діабетичних мікроангіопатій, зокрема, ретинопатії – у 50 випадках. Антидіабетична терапія включала пероральні цукрознижувальні препарати – сульфаніламід, бігуаніди або їх поєднання. Крім того, пацієнти з ЦД 2-го типу отримували протягом 3 місяців за умов незмінної антидіабетичної терапії 1 капсулу омега-3 ПНЖК на добу (1 капсула вміщує 4 мг  $\alpha$ -токоферолу + етилові ефіри омега-3 жирних кислот, а саме 460 мг ейкозапентаєнової кислоти + 380 мг докозагексаєнової кислоти).

Серед учасників дослідження не було хронічних курців, що підвищує репрезентативність екстраполяції отриманих даних відносно функціональних показників до поліморфних генотипів гена параоксонази за *Q192R*, оскільки доведено, що як діабет, так і куріння тютюну можуть значуще модифікувати ефекти цих ОНП [24, 30].

На додаток до загальноприйнятого лабораторного дослідження колориметрично, спектрофотометрично та імуноферментно визначали низку показників, які характеризують оксидативний стрес, антиоксидантний захист і системне запалення (цитокіни, адипоцитокіни та білки гострої фази).

Інсулінорезистентність оцінювали за індексом HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance) [31], чутливість до інсуліну визначали за QUICKI (Quantitative Insulin Check Index) [32].

Кількість загального глутатіону в еритроцитах визначали за допомогою комерційних наборів Randox і Ransod (Randox Laboratories Ltd, Велика Британія). Вміст відновленого та окисленого глутатіону в еритроцитах визначали колориметрично. Рівень вільних жирних кислот (ВЖК) вимірювали з використанням набору Wako Diagnostics (США).

Із використанням імуноферментних методів (ELISA) відповідно до інструкцій виробника було визначено такі параметри: високочутливий С-реактивний протеїн (вчСРП) (Roche Diagnostics, Швейцарія), інтерлейкін-6 (ІЛ-6), чинник некро-

зу пухлин  $\alpha$  (R@DSystems, Велика Британія), резистин, остеопротегерин (RayBiotech, США), ретинол-зв'язуючий протеїн-4, фетуїн-А (ICL, США), лептин, програнулін, васпін, оментин-1, ліпокалін-2 (Biovendor, Чеська Республіка), адипонектин загальний та адипонектин із високою молекулярною вагою (BMB) (ALPCO Diagnostics, США), інсулін (DRG, Німеччина).

Параоксоназну та діазоксоназну активність параоксонази в сироватці крові оцінювали спектрофотометрично з використанням як субстратів параоксону та діазоксону відповідно [33]. За відсутності рутинного способу, що ґрунтується на гідролізі ліпідних перекисів, рекомендовано використовувати саме цей метод [34].

ДНК виділяли з лейкоцитів за допомогою іонообмінної смоли Chelex R100. Генотипування *Q192R* гена параоксонази (*PON1*) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції та поліморфізму довжин рестриктних фрагментів із використанням відповідних праймерів.

Статистичний аналіз проводили за програмним комплексом SPSS, версія 13. Результати подано як середньоарифметична зі статистичною похибкою. Нормальність розподілу кількісних перемінних визначили за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосували непарний двобічний *t*-критерій Стьюдента, для порівняння перемінних із вільним розподілом – *U*-критерій Манна-Уїтні. Перевірку нульових гіпотез проведено на рівні значущості  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Стратифікація хворих на ЦД 2-го типу ( $n=61$ ) за ОНП *Q192R* гена *PON1* продемонструвала переважання мажорної алелі *Q* (таблиця). Слід зауважити, що тенденція розподілення генотипів за *Q192R PON1* у групі обстежених (*QQ* – 60,6%, *QR* – 36,1%, *RR* – 3,3%) узгоджується з наявними у авторів даними для більш широкої вибірки, яка обіймає 505 хворих на ЦД 2-го типу (*QQ* – 50,9%, *QR* – 36,0%, *RR* – 13,1%), і з результатами низки досліджень, в яких *R* алель було визначено як мінорну [35].

Перед початком лікування омега-3 ПНЖК між групами хворих на ЦД 2-го типу, стратифікованих за генетичними варіантами гена *PON1*, не знайдено вірогідних відмінностей у ступенях порушень глюкозного гомеостазу (глікемія на-

тще, HbA1c), гіпоадипонектинемії (загальний адипонектин і адипонектин BMB), гіпертригліцеридемії, зниження рівня циркулюючих ХС ЛПВЩ, зниження концентрації загального та відновленого глутатіону в еритроцитах. Разом із тим, базальна гіперінсулінемія, індекси HOMA-IR, рівні циркулюючих загального холестерину та холестерину ЛПНЩ були значуще більшими у гомозигот *QQ* і гетерозигот *QR* порівняно з гомозиготами *RR*.

За цих умов верифіковано чітку залежність фенотипу алоферменту від генетичних варіантів *PON1*. Так, індекс гідролізуючої діазоксоназної/параоксоназної активності ферменту був найбільшим у *QQ*-носіїв, що узгоджується з класичним визначенням особливостей біологічної дії алоформ параоксонази з використанням специфічних субстратів (діазоксону та параоксону) та з доведеним широким спектром коливань цієї активності у різних індивідуумів.

Слід відзначити зниження параоксоназної активності в обстежених хворих на діабет порівняно з контрольною групою ( $381,67 \pm 30,80$  Од/л проти  $589,33 \pm 108,78$  Од/л,  $p < 0,05$ ). Це свідчить про вплив тривалих порушень гормонального та глюкозного гомеостазу на активність ферменту.

Разом із тим, в осіб із порушеною толерантністю до глюкози та нещодавно діагностованим ЦД 2-го типу були відсутні зміни активності параоксонази щодо трьох субстратів (параоксон, фенілацетат, *p*-нітрофеніл ацетат) порівняно з показниками контрольної групи з нормальною толерантністю до глюкози [36]. Це свідчить про те, що втрата активності параоксонази не є ранньою ознакою, а розвивається на пізніх стадіях діабету. Крім того, в обстежених із ранніми стадіями порушення глюкозного гомеостазу вищі рівні окислених ЛПНЩ не корелювали з активністю параоксонази у сироватці, та не спостерігалось збільшення рівнів окислення ЛПНЩ у носіїв *R* алелі. З іншого боку, в японській популяції за відсутності діабету було визначено позитивну асоціацію HOMA-IR індексу, сурогатного маркера інсулінорезистентності, та активності параоксонази [37]. Більше того, короткочасне зменшення активності параоксонази спостерігалось під час гострої гіперглікемії (ОТТГ) в осіб із нормальною толерантністю до глюкози та хворих на ЦД [36].

Здатність параоксонази гальмувати оксида-

тивні ушкодження ЛПВЩ може бути критичною за стану, який сприяє окисленню, такого, наприклад, як гіперглікемія, оскільки окислені модифікації ЛПВЩ не лише зменшують їх здатність відвертати утворення окислених модифікацій ЛПВЩ, але й зменшують властивість ЛПВЩ виконувати функцію сильного акцептора холестерину [38]. Разом із тим, слід зазначити, що параоксон і діазоксон – екзогенні субстрати, тому інтерпретація дії параоксонази на них вимагає обережності.

Аналіз метаболічних та гормональних ефектів терапії омега-3 ПНЖК хворих на ЦД 2-го типу виявив певну залежність ефективності препарату від генетичних варіантів *PON1*. Так, у гомозигот *QQ* (виключно) порівняно з гетерозиготами *QR* і гомозиготами *RR* визначено найширший за складовими та вираженістю спектр сприятливої дії препарату, а саме, значуще поліпшення довгострокового глікемічного контролю за вмістом HbA1c, зменшення інсулінорезистентності за показниками базальної гіперінсулінемії, зниження рівня проатерогенного остеопротегерину в циркуляції, підвищення рівня циркулюючого загального адипонектину, зростання антиоксидантного захисту, верифіковане за збільшенням концентрацій загального та відновленого глутатіону в еритроцитах, а також тенденцію до зменшення вмісту прозапального ІЛ-6. Слід також зазначити, що у носіїв алелі *Q* верифіковано вірогідне зниження інсулінорезистентності за індексом HOMA-IR, але його статистична значущість була більше вираженою у гомозигот *QQ* порівняно з гетерозиготами *QR*. Разом із тим, дуже значне зниження високих рівнів циркулюючих ВЖК (метаболічний маркер/чинник інсулінорезистентності), верифіковане після терапії омега-3 ПНЖК, було найбільшим за абсолютними показниками у гомозигот *RR* порівняно з гетерозиготами *QR* і гомозиготами *QQ* ( $-0,75 \pm 0,05$ ,  $-0,32 \pm 0,13$  і  $-0,38 \pm 0,15$  ммоль/л;  $p < 0,01$  і  $p < 0,02$  відповідно). Решта досліджених метаболічних і гормональних складових, які характеризують стан низькоінтенсивного хронічного запалення та роблять внесок до процесів атерогенезу, не продемонстрували залежності від *Q192R PON1* генотипу.

Отримані нами дані стосовно найефективнішої реабілітуючої дії омега-3 ПНЖК на "новітні" чинники високого кардіоваскулярного ризику у гомозигот *QQ* узгоджуються з численними клі-

нічними дослідженнями, в яких доведено протекторну дію *Q* алелі щодо атеросклерозу (кардіоваскулярної хвороби), у той час як алель *R* була асоційованою з ризиком ІХС [17-20].

Верифікація носіїв *QQ* як найбільш чутливих до сприятливих ефектів, які справляють омега-3 ПНЖК на "новітні" маркери/чинники високого кардіоваскулярного ризику за умов персистенції зниженої гідролізуючої активності алофер-

ментів параоксонази, спонукає до думки про значення генетичних варіантів *Q192R* гена *PON1* для реалізації взаємодії, у тому числі активації, різних генів у межах геному, залучених до біологічних ефектів дослідженого фармпрепарату. Не виключається також можливість нерівноважного зчеплення вказаних ОНП з іншими каузальними, але дотепер не ідентифікованими варіантами [17].

Таблиця

**Клініко-біохімічні характеристики хворих на цукровий діабет 2-го типу відповідно до генотипів параоксонази *Q192R PON1* перед початком і після терапії омега-3 поліненасиченими жирними кислотами**

Показник	<i>Q192R PON-1</i>		
	<i>QQ</i> (n=37)	<i>QR</i> (n=22)	<i>RR</i> (n=2)
Вік, роки	53,00±1,41	55,63±2,30	54,50±10,50
Тривалість діабету, роки	5,91±0,94	6,76±0,93	8,50±1,50
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,37±1,01	32,97±1,26	35,00±6,00
ОТ/ОС	0,97±0,01	0,98±0,03	1,03±0,08
Глікемія натще, ммоль/л			
Перед початком терапії	9,31±0,52	8,45±0,51	8,37±2,47
Після терапії	6,61±0,41 <sup>B</sup>	6,61±0,64 <sup>B</sup>	4,83±0,78
Зміна (D)	-2,55±0,87	-2,26±1,01	-3,54±3,25
<b>Перед vs після</b>	p<0,0001	p<0,05	
Інсулін, пмоль/л			
Перед початком терапії	128,29±16,23 <sup>B</sup>	143,31±16,60 <sup>B</sup>	71,79±8,33
Після терапії	91,55±8,28	116,94±17,81	77,25±25,96
Зміна (D)	-49,07±25,31 <sup>b</sup>	-22,60±15,08	5,45±17,62
<b>Перед vs після</b>	p<0,05		
НОМА-ІR, ум. од.			
Перед початком терапії	8,07±1,11 <sup>B</sup>	8,36±1,04 <sup>B</sup>	4,02±0,75
Після терапії	4,04±0,35	5,04±0,65	2,73±1,29
Зміна (Δ)	-7,65±3,95	-3,56±0,93	-1,30±2,03
<b>Перед vs після</b>	p<0,0001	p<0,01	
QUICKI, ум. од.			
Перед початком терапії	0,47±0,01 <sup>b</sup>	0,46±0,01 <sup>B</sup>	0,51±0,02
Після терапії	0,53±0,01	0,52±0,02	0,59±0,08
Зміна (D)	0,06±0,01	0,06±0,02	0,07±0,10
<b>Перед vs після</b>	p<0,0001	p<0,01	
NGSP/ HbA1c, %			
Перед початком терапії	8,00±0,22	7,40±0,32	8,19±1,43
Після терапії	7,05±0,27	7,21±0,34	7,58±0,80
Зміна (Δ)	-0,82±0,34	-0,16±0,45	-0,60±0,63
<b>Перед vs після</b>	p<0,01		
Тригліцериди, ммоль/л			
Перед початком терапії	3,42±0,72	2,60±0,28	2,35±0,90
Після терапії	2,78±0,31 <sup>B</sup>	2,28±0,30 <sup>B</sup>	5,04±0,80
Зміна (D)	-0,38±0,52 <sup>b</sup>	-0,16±0,34 <sup>b</sup>	2,68±1,70
ВЖК, ммоль/л			
Перед початком терапії	1,23±0,10	1,10±0,10	1,39±0,01 <sup>A</sup>
Після терапії	0,82±0,05 <sup>B</sup>	0,71±0,05	0,64±0,06
Зміна (Δ)	-0,38±0,15 <sup>B</sup>	-0,32±0,13	-0,75±0,05 <sup>A</sup>
<b>Перед vs після</b>	p<0,0001	p<0,0001	p<0,002

Показник	Q192R PON-1		
	QQ (n=37)	QR (n=22)	RR (n=2)
Загальний глутатіон, мкмоль/л			
Перед початком терапії	999,84±95,36	1197,29±122,05	1046,00±455,00
Після терапії	1408,32±109,32 <sup>B</sup>	1323,93±129,26 <sup>B</sup>	833,00±193,00
Зміна (D)	324,73±155,97 <sup>b</sup>	206,92±136,59	-231,00±262,00
<b>Перед vs після</b>	p<0,01		
Відновлений глутатіон, мкмоль/л			
Перед початком терапії	766,46±77,98	912,81±114,16	644,00±263,00
Після терапії	1044,00±102,73 <sup>B</sup>	1025,07±110,11 <sup>B</sup>	496,50±41,50
Зміна (Δ)	212,05±134,52	150,00±120,54	-147,50±221,50
<b>Перед vs після</b>	p<0,05		
ХС ЛПВЩ, ммоль/л			
Перед початком терапії	0,97±0,05	1,01±0,06	0,88±0,11
Після терапії	1,04±0,05 <sup>B</sup>	1,21±0,11 <sup>B</sup>	0,78±0,09
Зміна (D)	0,06±0,06 <sup>B</sup>	0,19±0,10 <sup>B</sup>	-0,10±0,02
ХС ЛПНЩ, ммоль/л			
Перед початком терапії	3,29±0,21 <sup>B</sup>	3,32±0,20 <sup>B</sup>	2,46±0,15
Після терапії	3,90±0,27 <sup>B</sup>	3,68±0,23 <sup>B</sup>	2,24±0,02
Зміна (Δ)	0,61±0,21 <sup>B</sup>	0,19±0,23	-0,23±0,13
<b>Перед vs після</b>	p<0,1		
вЧСРП, мг/л			
Перед початком терапії	8,77±3,38	4,47±1,05	5,68±3,68
Після терапії	4,09±0,69	3,87±1,42	6,46±2,64
Зміна (D)	-6,11±4,89	-0,64±1,22	0,79±1,04
ІЛ-6, нг/л			
Перед початком терапії	12,06±2,09 <sup>A</sup>	6,73±1,00	7,98±2,21
Після терапії	8,17±0,94	6,88±0,87	10,08±3,20
Зміна (Δ)	-3,89±1,93 <sup>ab</sup>	0,14±0,81	2,10±0,99
<b>Перед vs після</b>	p<0,1		
Загальний адипонектин, мг/л			
Перед початком терапії	5,27±0,43	5,31±0,60	4,36±2,27
Після терапії	7,07±0,69 <sup>B</sup>	6,37±1,07	4,28±0,83
Зміна (D)	1,80±0,75	1,06±0,59	-0,07±1,44
<b>Перед vs після</b>	p<0,05		
ВМВ адипонектин, мг/л			
Перед початком терапії	2,44±0,26	2,57±0,59	1,53±0,69
Після терапії	3,19±0,40 <sup>B</sup>	2,72±0,56	1,81±0,32
Зміна (Δ)	0,75±0,31	0,15±0,43	0,29±0,37
Остеопротегерин, нг/л			
Перед початком терапії	530,50±58,53 <sup>B</sup>	443,27±45,43	370,00±5,00
Після терапії	356,00±36,64	326,17±28,91	441,00±225,00
Зміна (D)	-143,65±59,25	-100,91±49,65	71,00±220,00
<b>Перед vs після</b>	p<0,02		
Параоксоназа, Од/л			
Перед початком терапії	275,36±45,11 <sup>AB</sup>	537,75±88,28	525,00±119,00
Після терапії	303,36±45,75 <sup>A</sup>	518,17±80,59	513,50±162,50
Зміна (Δ)	28,00±22,88	-19,58±20,83	-11,50±43,50
Діаксоназа, Од/л			
Перед початком терапії	8952,55±661,17 <sup>AB</sup>	8769,75±562,94 <sup>B</sup>	4754,00±1094,00
Після терапії	9297,50±691,59 <sup>AB</sup>	8942,58±749,79 <sup>B</sup>	4542,00±878,00
Зміна (D)	344,95±849,10	172,83±454,00	-212,00±216,00

Показник	Q192R PON-1		
	QQ (n=37)	QR (n=22)	RR (n=2)
Діазоксоназна/параоксоназна активність			
Перед початком терапії	45,05±4,28 <sup>AB</sup>	23,63±4,85 <sup>B</sup>	10,04±4,36
Після терапії	39,37±3,20 <sup>AB</sup>	23,88±4,89 <sup>b</sup>	10,43±5,01
Зміна ( $\Delta$ )	-5,68±3,14 <sup>ab</sup>	0,25±0,66	0,39±0,65

**Примітка:** <sup>A</sup> –  $p < 0,05$  відносно показника групи QR; <sup>a</sup> –  $0,05 < p < 0,1$  відносно показника групи QR; <sup>B</sup> –  $p < 0,05$  відносно показника групи RR; <sup>b</sup> –  $0,05 < p < 0,1$  відносно показника групи RR.

## ВИСНОВКИ

1. У хворих на цукровий діабет 2-го типу підтверджено чітку асоціацію генетичних варіантів гена параоксонази (*PON1 Q192R*) із функціональним патерном, визначеним за параоксонасною та діазоксонасною активністю, а також відношенням діаксоназна/параоксоназна активність, як і детермінуючу роль генотипу для збереження фенотипу ферменту в умовах фармакотерапії омега-3 поліненасиченими жирними кислотами.

2. У стратифікованих за варіантами гена параоксонази (*PON1 Q192R*) хворих на цукровий діабет 2-го типу верифіковано залежні від генотипу значущі відмінності у ступенях інсулінорезистентності, визначені за базальною гіперінсулінемією, підвищеними індексами HOMA-IR та зниженими індексами чутливості до інсуліну за QUICKI (найменші порушення у гомозигот RR відносно носіїв Q алелі – гомозигот QQ, гетерозигот QR).

3. Визначено залежну від варіантів гена параоксонази (*PON1 Q192R*) варіативність сприятливих плейотропних ефектів омега-3 поліненасичених жирних кислот, а саме, значущий реабілітуючий ефект останніх щодо "новітніх" чинників високого кардіоваскулярного ризику, таких як інсулінорезистентність, гіпоадипонектинемія, гіперостеопротегеринемія та знижений антиоксидантний захист, переважно у гомозигот QQ.

4. Отже, вперше у хворих на цукровий діабет 2-го типу доведено роль генетичних варіантів *Q192R* гена *PON1* у формуванні терапевтичної ефективності омега-3 поліненасичених жирних кислот за визначенням QQ генотипу як найбільш реактивного. Це надає нові докази перспективності фармакогенетики для впровадження індивідуалізованої терапії, що ґрунтується на прогнозованості позитивних ефектів фармакологічного втручання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Kozak B.M., Tjota M.I., Close K.L. International Diabetes Federation (IDF) highlights growing global impact of diabetes in 5th edition of the Diabetes Atlas // Journal of Diabetes. – 2012. – Vol. 4. – P. 8-17.
2. Тронько М.Д. Пріоритетні проблеми клінічної ендокринології в Україні на сучасному етапі // Здоров'я України. – 2012. – №2-3(18-19). – С. 10-11.
3. Чернобров А.Д. Довідник основних показників діяльності ендокринологічної служби України за 2012 рік // Ендокринологія. – 2013. – Т. 18, №1 (додаток 1). – 36 с.
4. DeFronzo R.A. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009 // Diabetologia. – 2010. – Vol. 53. – P. 1270-1287.
5. Stocker R., Keane J.F., Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis // Physiol. Rev. – 2004. – Vol. 84. – P. 1381-1478.
6. Hayden M.R., Tyagi S.C. Is type 2 diabetes mellitus a vascular disease (atheroscleropathy) with hyperglycemia a late manifestation? The role of NOS, NO, and redox stress // Cardiovascular Diabetology. – 2003. – Vol. 2, №2. – P. 1-10.
7. Bloomgarden Z.T. Insulin resistance, dyslipidemia, and cardiovascular disease // Diabetes Care. – 2007. – Vol. 30, №8. – P. 2164-2170.
8. Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins J.B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 2003. – Vol. 17. – P. 24-38.
9. Watson A.D., Berliner J.A., Hama S.Y. et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidised low-density lipoprotein // J. Clin. Invest. – 1995. – Vol. 96. – P. 2882-2889.
10. Tomas M., Latorre G., Senti M., Marrugata J. The antioxidant function of high density lipoproteins: a new paradigm in atherosclerosis // Rev. Esp. Cardiol. – 2004. – Vol. 57, № 6. – P. 557-569.
11. Irace C., Cortese C., Fiaschi E. et al. The influence of PON1 192 polymorphism on endothelial function in diabetic subjects with or without hypertension // Hypertens. Res. – 2008. – Vol. 31. – P. 507-513.
12. GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

13. *Zhang B., Eto S., Fan P. et al.* Paraoxonase (Pon1) Q192R polymorphism and serum PON1 activity in diabetic patients on maintenance hemodialysis // *Clin. Nephrol.* – 2003. – Vol. 60, №4. – P. 257-265.
14. *Billicke S., Draganov D., Rosenblat M. et al.* Human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in peroxidase-like activities // *Circulation.* – 2000. – Vol. 101. – P. 2510-2517.
15. *Sanghera D.K., Saha N., Aston C.E., Kamboh M.I.* Genetic polymorphism of paraoxonase and the risk of coronary heart disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17. – P. 1067-1073.
16. *Flekac M., Skrha J., Zidkova K. et al.* Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus // *Physiol. Res.* – 2008 – Vol. 57. – P. 717-726.
17. *Ranade K., Kirchgessner T.G., Iakoubova O.A. et al.* Evaluation of the paraoxonases as candidate genes for stroke: Gln192Arg polymorphism in the paraoxonase 1 gene is associated with increased risk of stroke // *Stroke.* – 2005. – Vol. 36. – P. 2346-2350.
18. *Odawara M., Tachi Y., Yamashita K.* Paraoxonase polymorphism (Gln192-Arg is associated with coronary heart disease in Japanese non-insulin-dependent diabetes mellitus // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1997. – Vol. 82. – P. 2257-2260.
19. *Imai Y., Marita H., Kurihara H. et al.* Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases // *Atherosclerosis.* – 2000. – Vol. 149. – P. 435-442.
20. *Voetsch B., Benke K.S., Damasceno B.P. et al.* Paraoxonase 192 Gln->Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults // *Stroke.* – 2002. – Vol. 33. – P. 1459-1464.
21. *Billecke S., Draganov D., Counsell R. et al.* Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters // *Drug Metab. Disposition.* – 2000. – Vol. 28, №11. – P. 1335-1342.
22. *Aviram M., Hardak E., Vaya J. et al.* Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities // *Circulation.* – 2000. – Vol. 101, №21. – P. 2510-2517.
23. *Katakami N., Sakamoto K., Kaneto H. et al.* Combined effect of oxidative stress-related gene polymorphisms on atherosclerosis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2009. – Vol. 379, №4. – P. 861-865.
24. *Senti M., Aubo C., Tomas M.* Differential effects of smoking on myocardial infarction risk according to the Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase gene // *Metabolism.* – 2000. – Vol. 49. – P. 557-559.
25. *Furlong C.E., Cole T.B., Jarvik G.P., Costa, L.G.* Pharmacogenomic considerations of the paraoxonase polymorphisms // *Pharmacogenomics.* – 2002. – Vol. 3. – P. 341-348.
26. *Rodbard H.W., Jellinger P.S.* Comment on: Inzucchi et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) // *Diabetes Care.* – 2012. – Vol. 35. – P. 1364-1379.
27. *Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатъев И.В., Кукес В.Г.* Клиническая фармакогенетика: Учебное пособие / Под редакцией академика РАМН В.Г. Кукеса и академика РАМН Н.П. Бочкова. – М.: ГЭОТАР. – Медиа, 2007. – 248 с.
28. *Karachentsev Y., Gorshunskaya M., Jansen E. et al.* Omacor attenuated insulin resistance in type 2 diabetes patients // *World Diabetes Congress, Dubai, 4-8 December, 2011.* – Dubai, 2011. – P. 1403.
29. *Горшунська М.Ю.* Вплив омега-3 поліненасичених жирних кислот на класичні та новітні чинники серцево-судинного ризику у хворих на цукровий діабет 2 типу (огляд літератури та власні результати) // *Проблеми ендокринної патології.* – 2012. – № 4. – С. 126-134.
30. *Sen-Banerjee S., Siles X., Campos H.* Tobacco smoking modifies association between Gln-Arg192 polymorphism of human paraoxonase gene and risk of myocardial infarction // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2000. – Vol. 20. – P. 2120-2126.
31. *Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man // *Diabetologia.* – 1985. – Vol. 28. – P. 412-419.
32. *Katz A., Nambi S.S., Mather K. et al.* Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* – 2000. – Vol. 85. – P. 2402-2410.
33. *Richter R., Furlong C.E.* Determination of paraoxonase (PON) status requires more than genotyping // *Pharmacogenetics.* – 1999. – Vol. 9. – P. 745-753.
34. *Mackness B., Davies G.K., Turkie W. et al.* Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2001. – Vol. 21. – P. 1451-1457.
35. *Mastorikou M., Mackness M., Mackness B.* Defective metabolism of oxidized phospholipid by HDL from people with type 2 diabetes // *Diabetes.* – 2006. – Vol. 55, №11. – P. 3099-3103.
36. *Kopprasch S., Pietzsch J., Kuhlisch E. et al.* In vivo evidence for increased oxidation of circulating LDL in impaired glucose tolerance // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51. – P. 3102-3106.
37. *Yamada A., Shoji T., Tahara H. et al.* Effect of insulin resistance on serum paraoxonase activity in a nondiabetic population. *Metabolism.* – 2001. – Vol. 50. – P. 805-811.
38. *Nagano Y., Arai H., Kita T.* High density lipoprotein loses its effect to stimulate efflux of chole-



terol from foam cells after oxidative modification  
// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1991. – Vol. 88. –  
P. 6457-6461.

## РЕЗЮМЕ

**Экспрессивность реабилитирующих эффектов  
омега-3 полиненасыщенных жирных кислот у  
больных сахарным диабетом 2-го типа с  
полиморфными вариантами гена  
параоксоназы**

**М.Ю. Горшунская, Ю.И. Караченцев,  
Н.А. Кравчун, Э. Йенсен, Л.А. Атраментова,  
А.И. Гладких, Н.С. Красова, Ж.А. Лещенко,  
Т.В. Тыжненко, Ю.А. Опалейко,  
А.К. Почерняев, В.В. Полторак**

В работе представлены данные, на основании которых впервые доказана роль генетических вариантов *Q192R* гена параоксоназы (*PON1*) в формировании терапевтической эффективности омега-3 полиненасыщенных жирных кислот у больных сахарным диабетом 2-го типа относительно "новейших" факторов сердечно-сосудистого риска (инсулинорезистентность, адипоцитокины, антиоксидантная защита) с выявлением *QQ* генотипа как наиболее реактивного. Полученные результаты подтверждают перспективность фармакогенетики как основы для индивидуализированной терапии с прогнозируемым эффектом фармакологического вмешательства.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2-го типа, полиморфизм гена параоксоназы, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты.

## SUMMARY

**Expressivity of rehabilitative effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes patients with paraoxonase gene polymorphous variants**

**M. Gorshunskaya, I. Karachentsev, N. Kravchun, E. Jansen, L. Atramentova, A. Gladkih, N. Krasova, Z. Leshchenko, T. Tyzhnenko, Y. Opaleiko, A. Pochernyaev, V. Poltorak**

The paper presents data on the basis of which it is firstly proved the role of *Q192R* genetic variants of the paraoxonase gene (*PON1*) in the formation of the therapeutic efficacy of omega-3 polyunsaturated fatty acids (Omacor medicine) in patients with type 2 diabetes in relation to new cardiovascular risk factors (insulin resistance, adipocytokines, antioxidant protection) with the identification of *QQ* genotype as the most reactive. The results confirm the promise of pharmacogenetics as a basis for personalized therapy with a predicted effect of pharmacological intervention.

**Key words:** type 2 diabetes mellitus, paraoxonase gene polymorphism, omega-3 polyunsaturated fatty acids.

Дата надходження до редакції 25.03.2013 р.