

## ФЕНОТИПІЧНИЙ ПАТЕРН ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ПАРАОКСОНАЗИ (SNP Q192R/PON1) У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ<sup>1</sup>

Горшунська М. Ю.

*Харківська медична академія післядипломної освіти*

Натепер вважають, що окиснення ліпопротеїнів низької густини (ЛПНГ) в артеріальній стінці є головною подією, що призводить до ініціації і прогресування атеросклерозу [1]. З іншого боку, поміж механізмів антиатерогенної дії ліпопротеїнів високої густини (ЛПВГ) зростаючу зацікавленість викликає параоксоназа (PON1), яка виключно асоційована з ЛПВГ [2–8].

PON1 метаболізує помірно окиснені фосfolіпіди переважно шляхом елімінації гідроперекисних дериватів ненасичених жирних кислот [2]. В дослідженнях *in vitro* показано, що PON1 відвертає накопичення ліпідних перекисів в ЛПНГ [9] і у такий спосіб анулює прозапальні ефекти ЛПНГ [2]. Зрозуміло, що очікувана асоціація «PON1 — ішемічна хвороба серця (ІХС)» є результатом ролі PON1 в метаболізмі біоактивних ліпідних молекул і захисту проти ушкоджень, пов'язаних з окисненням ЛПНГ. Зменшені рівні активності PON1 діагностовано в сироватці крові пацієнтів із ІХС [10] та у хворих на цукровий діабет (ЦД), особливо 2 типу за наявності судинних ускладнень, в різних етнічних популяціях [11–13]. Вищезначений феномен може бути пов'язаний із ланцюгом метаболічних чинників, притаманних як ІХС, так і ЦД, а саме: підвищеною глікацією білків, переважно ЛПНГ, яка гальмує функціональну здатність PON1 [1, 14];

збільшеним оксидативним стресом (і у такий спосіб — підвищеною ліпідною пероксидацією) [4], який також гальмує PON1 [3].

Слід зазначити, що PON1 гідролізує численні субстрати, які включають токсичні компоненти пестицидів паратіону, хлорпірифосу та діазоксону, ефіри арилів, такі як фенилацетат і нейротоксичні речовини зоман та зарин. Верифікована 10–40-разова міжіндивідуальна варіабельність щодо темпу гідролізу параоксону [15], яка регулюється як чинниками довкілля (дієта, фізична активність), так і особливо генетичним поліморфізмом гена *PON1* [16–18]. Молекулярним підґрунтям поліморфізму активності PON1 є міссенс-мутація в кодуючій області гена *PON1*, розташованого у людини на 7q21–22 хромосомі, що призводить до заміщення глутамін (Q) / аргінін (R) в кодоні 192 [16]. PON1Q192 алоформа гідролізує параоксон та хлорпірифос оксон набагато менш ефективно, ніж PON1R192, вказуючи, однак, протилежну ефективність щодо гідролізу діазоксону, зоману та зарину [16, 19]. Разом з тим, PON1Q192 більш ефективна щодо метаболізації окиснених ЛПВГ або ЛПНГ, ніж PON1R192 [4]. Темпи гідролізу субстрату можуть коливатися в межах *PON1* генотипів дуже суттєво (принаймні, в 13 разів) і являють собою фенотипи, які доповнюють інформацію щодо PON1 ста-

<sup>1</sup>Робота виконана в межах Договору про сумісну наукову діяльність з Національним інститутом охорони громадського здоров'я та екології (м. Білтховен, Нідерланди) та ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України» (м. Харків, Україна).

тусу за межами одного генотипування. Доречно зауважити, що гідролізуюча параоксон активність втрачалася в плазмі *PON1*-нокаутних мишей і ці миші виявляли більшу чутливість до атеросклерозу, індукованого дієтою [17]; в протизагу, атеросклеротичні порушення, індуковані дієтою і на моделі ароЕ-нульових мишей, зменшувалися у трансгенних (людський *PON1*) мишей (у останніх збільшувались в 2–4 рази плазматичні рівні *PON1*, а виділені у них ЛПВГ захищали ефективніше ЛПНГ від окиснення) [20].

*PON1R192* алель або *PON1RR192* генотип асоційовані з ІХС в багатьох [21–24], але не всіх [25] дослідженнях, що в суттєвій мірі може бути пов'язано з генетичним розмаїттям (різна частота алелей та генотипів *PON1*) [7], так і взаємодією ген-довкілля [26]

в залучених етнічних популяціях. В зв'язку з останнім доречно наголосити визначення гену *PON1* в якості кандидатного, а його поліморфізми (Arg192Gln, Met55Leu, точкові мутації в промоторній зоні) — релевантними до здоров'я людини за умов забруднення довкілля [26].

В роботі, що подається, вперше в українській популяції хворих на ЦД 2 типу визначені фенотипи *PON1*–192 за темпами гідролізу параоксону (ПОазна активність) та діазоксону (ДЗОазна активність), проведено їх співставлення з *PON1* генотипом, а також досліджена залежність між цими фенотипічними показниками та іншими параметрами гормонально-метаболических зсувів, притаманних діабету, що являють собою чинники ризику ІХС.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 31 пацієнта (ж/ч: 21/10), хворого на ЦД 2 типу, переважно суб- та декомпенсованого за показниками глікемічного контролю (глікемія натще, фруктозамін) та ліпідного профілю (гіпертригліцеридемія, знижений рівень холестерину ЛПВГ — ХС ЛПВГ, підвищений рівень вільних жирних кислот — ВЖК), з надлишковою масою тіла або ожирінням, середнього віку ( $55,61 \pm 1,09$  років). У 30 хворих спостерігалися мікроангіопатії (у 28 — полінейропатії, у 19 — ретино-, у шести — енцефало-, у одного — кардіоміопатія та у одного — нефропатія). У 18 хворих діагностовано ІХС, сполучену з есенціальною гіпертонією у 14 випадках, у 11 хворих — ізольовану есенціальну гіпертонію, у двох хворих були відсутні як ІХС, так і гіпертонія. У обстеженого діабетичного загалу верифікована наявність метаболічного синдрому за критеріями NCEP ATR III.

ПОазна та ДЗОазна активність *PON1* в сироватці крові оцінювалася спектрофотометрично з використанням, відповідно, параоксону та діазоксону в якості субстратів [27]. За відсутності рутинного засобу, що базується на гідролізі ліпідних перекисів, слід залучати саме цей метод [28]. Всі зразки досліджувалися в дублікатах, середні рівні ви-

користовувалися для аналізу. *PON1* генотип міг бути прогнозований з великою точністю за дослідженням темпів гідролізу діазоксону до параоксону на дворозмірній діаграмі [6, 27]. Із 79 зразків сироватки крові, отриманих при динамічному спостереженні у 31 хворого на ЦД 2 типу, 44 були генотиповані за фенотипом як *QQ* та 35 — як *QR*. При цьому в 100 % верифіковано співпадіння з *PON1 192* генотипом при вибірковому аналізі за використанням методу полімеразної ланцюгової реакції [16]. Доречно зауважити відсутність курців серед обстеженого загалу, що підвищує репрезентативність отриманих даних, оскільки доведено гальмуючий вплив на ПОазну активність *PON* екстракту сигаретного диму шляхом модифікації вільних тіолових груп фермента [29]. Перелік інших біохімічних показників та методи їх визначення подані раніше [30].

Статистичний аналіз проведено за програмним комплексом SPSS, версія 13. Нормальність розподілу перемінних оцінювали за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова. Порівняння між групами проведено за допомогою непарного *t*-тесту. Для верифікації зв'язку між рівнями біохімічних або гормональних показників використано рангову кореляцію Спірмана.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У обстежених хворих на ЦД 2 типу порівняно до контрольних здорових осіб відповідного віку визначено значущі ( $P < 0,05$  —  $< 0,001$ ) дисглікемію, дисліпідемію, зниження антиоксидантного захисту (зменшена активність глутатіонредуктази, супероксиддисмутази, залізовідновлюючої активності (Fe-АП), показника GSSG/GSH, знижені рівні фолатів,  $\alpha$ -токоферолу та відновленого глутатіону), підсилення переокисного окиснення ліпідів (зростання рівня малонного діальдегіду (МДА)), інсулінорезистентність (суттєве підвищення інсулінемії натще, НОМА-ІР індексу) та хронічне запалення низької інтенсивності (підвищення рівня С-реактивного білка (СРБ) та фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) в циркуляції). Рівень адипонектину — гормону адипоцитів, що демонструє метаболічно-інсуліноміметичну та антиатерогенну дію, був значуще знижений ( $P = 0,017$ ), в той час, як концентрація лептину — іншого гормону адипоцитів, що регулює апетит, енергетичний баланс та є маркером накопичення жиру в адипоцитах — підвищений ( $P < 0,01$ ). Було визначено також значуще підвищення рівня феритину ( $P < 0,001$ ), гаптоглобіну ( $P < 0,05$ ) та Fe ( $P < 0,05$ ), що свідчить про надлишкове накопичення заліза. Рівні креатиніну та білірубину коливалися в межах норми.

ПОазна активність PON1 сироватки крові була значуще ( $P < 0,05$ ) зменшена у хворих на ЦД 2 типу ( $441,59 \pm 24,85$  Од/л) порівняно до контрольних осіб ( $729,57 \pm 140,08$  Од/л) на відміну від ДЗОазної активності, якій були притаманні більш виразні індивідуальні коливання в обох групах за відсутності закономірних розбіжностей (відповідно,  $9850, 35 \pm 240,15$  та  $9638,57 \pm 974,80$  Од/л).

При подальшій стратифікації гідролізуючої активності PON1 за співставленням до нормального та високоризикованого щодо ІХС рівнів СРБ (відповідно,  $< 3$  мг/л та  $> 3$  мг/л) верифіковано значуще ( $P < 0,05$ ) зниження ПОазної активності порівняно до контролю ( $412,85 \pm 33,60$  Од/л) саме в групі хворих на ЦД

2 типу з ознаками хронічного низькоінтенсивного запалення (СРБ  $> 3$  мг/л). Це співпадало з найбільш виразним зростанням інсулінорезистентності (НОМА-ІР індекс  $11,45 \pm 1,44$  vs  $7,36 \pm 0,78$  при СРБ  $< 3$  мг/л,  $P < 0,002$ , у контрольних осіб —  $1,18 \pm 0,44$ ,  $P < 0,001$ ). ДЗОазна активність PON1 була подібна в групах, що співставлялися, як у хворих на ЦД 2 типу, так і контрольних осіб (відповідно,  $9474,67 \pm 294,79$  та  $10374,03 \pm 420,89$  Од/л за циркулюючих рівнів СРБ  $< 3$  мг/л та  $> 3$  мг/л).

Разом з тим, слід зазначити наявність високозначущої зворотної за напрямком кореляції між рівнями субстрат-залежної гідролізуючої активності PON1, а саме, ПОазної та ДЗОазної, у дослідженого діабетичного загалу ( $r_s = -0,374$ ,  $P = 0,001$ ). Вищенаведене обґрунтовує правомірність використання цих функціональних параметрів PON1 для визначення фенотипу ферменту. Окрім того, слід наголосити доведену кореляцію ПОазної та ДЗОазної активностей PON1 з рівнями лептину в циркуляції, різноспрямованої за напрямком, відповідно, зворотної ( $r_s = -0,364$ ,  $P = 0,001$ ) та прямої ( $r_s = 0,373$ ,  $P = 0,001$ ) (висвітлення інших корелятивних зв'язків є за межами даного повідомлення).

Генотипування *Q192RPN1* за співвідношенням ДЗОазної / ПОазної активностей (табл. 1) засвідчує значуще більш високий рівень ДЗОазної активності у носіїв *QQ* — генотипу порівняно до *QR* — генотипу, при цьому ПОазна активність була значуще вищою у носіїв генотипу *QR* порівняно до *QQ* ( $P < 0,001$ ). Слід зазначити, що в нашому дослідженні були відсутні носії *RR*, котрим, як відомо, за відсутності та наявності ЦД притаманна найбільша експресія ПОазної активності в сироватці крові [13, 27].

Характер розподілення субстрат-залежної гідролізуючої активності у хворих на ЦД 2 типу в нашому дослідженні співпадав з визначеним для відповідних фенотипів в інших популяціях без діабету [6, 27], що віддзеркалює детермінуючу роль генотипу у визначенні фенотипу, поряд з цим, у та-

Фенотипи гідролізуючої активності PON1 у хворих на цукровий діабет 2 типу, стратифікованих за PON1 192 генотипом

Субстрат-залежна гідролізуюча активність	PON1 генотип		P
	QQ (n = 44)	QR (n = 35)	
ДЗОазна активність (Од/л)	11329,39 ± 223,92	7991,00 ± 243,20	< 0,001
ПОазна активність (Од/л)	266,86 ± 8,25	661,26 ± 23,25	< 0,001
Індекс ДЗОазна активність / ПОазна активність	43,11 ± 0,58	12,30 ± 0,32	< 0,001

кий спосіб забезпечується коректна сегрегація модулюючого впливу на ПОазну активність PON1 гормонально-метаболических зсувів, притаманних ЦД.

В нашому дослідженні індекс гідролізуючої ДЗОазної / ПОазної активностей для контрольних осіб чітко співпадав з показниками відповідних фенотипів PON1 у діабетичного загалу (47,55 ± 1,65 для QQ та 11,35 ± 1,50 для QR).

Слід зазначити, що вражаючі відмінності ПОазної активності PON1 у різних генотипів (*Q192R*PON1) наголошують доречність індивідуального аналізу її динаміки для моніторингу ефективності антидіабетичної терапії, перш за все скерованої на зменшення оксидативного стресу.

Співставлення рівнів ПОазної активності сироватки крові хворих на ЦД 2 типу, сегрегованих за фенотипом, з відповідним контролем довело достеменно її зниження тільки у пацієнтів з генотипом QR, тобто вплив метаболічно-гормональних зсувів верифіковано за умов високої вихідної ПОазної активності (відповідно, 661,26 ± 23,25 Од/мл vs 850,50 ± 48,30 Од/мл у контрольних осіб, P < 0,01). У такий спосіб засвідчено детермінуюче значення генотипу для визначення фенотипу і модулюючий вплив метаболічно-гормональних зсувів, притаманних діабету.

У носіїв низької ПОазної активності (QQ) не доведено модулюючого впливу метаболічно-гормональних порушень за наявності діабету, що частково може бути пов'язано з високою варіабільністю ПОазної активності у носіїв QQ генотипу в конт-

рольній групі за умов її кількісної обмеженості.

Щодо ДЗОазної активності сироватки крові хворих на ЦД 2 типу, то ми спостерігали не тільки відсутність значущих змін при порівнянні з контрольними особами, як показано раніше, але також і відсутність значущих змін цього параметру як у носіїв генотипу QQ, так і QR порівняно до відповідного за генотипом контролю (11329,39 ± 223,92 Од/л vs 11247,50 ± 2597,50 Од/л для QQ; 8008,14 ± 240,23 Од/л vs 9641,75 ± 984,16 Од/л — для QR).

Метаболічно-гормональний стан у хворих на ЦД 2 типу з різним фенотипом PON1 за наявності подібного ступеня порушень глікозного гомеостазу, виразності хронічного запалення низької інтенсивності, класичних параметрів кардіоваскулярного ризику та інсулінорезистентності (гіпертригліцеридемія, підвищені рівні вільних жирних кислот, НОМА-ІР індексу) засвідчує деякі відмінності, які можуть модулювати потенційний протективний ефект алоферментів щодо перебігу діабету, в першу чергу його судинних ускладнень (табл. 2). В зв'язку з вищезначеним особливу увагу привертає значуще (P < 0,002) збільшення циркулюючого лептину за межами фізіологічного (P < 0,001 vs контроль) у носіїв генотипу QQ порівняно до QR, а також зменшення у перших активності глутатіонпероксидази (P < 0,05) та тенденція до зниження антирадикального захисту. У хворих на ЦД 2 типу носіїв QR генотипу спостерігалось, порівняно з QQ генотипом, значуще підвищення

Метаболічні та гормональні показники у хворих на цукровий діабет 2 типу за урахуванням фенотипічного патерну однонуклеотидного поліморфізму гена *PON1* (*Q192R*)

Показник	<i>PON1</i> 192 генотип, визначений за фенотипом <sup>1</sup>		P
	QQ (n = 44)	QR (n = 35)	
1	2	3	4
Глюкоза, ммоль/л	11,89 ± 0,58	10,89 ± 0,59	
ІРІ, ммоль/л	112,48 ± 9,92	103,84 ± 10,46	
НОМА-ІР індекс	9,52 ± 1,08	8,03 ± 1,04	
ВЖК, ммоль/л	0,58 ± 0,04	0,54 ± 0,05	
Фруктозоамін, мкмоль/л	387,98 ± 12,35	356,36 ± 12,99	
вч СРБ, мг/л	3,59 ± 0,38	3,42 ± 0,48	
Р-КППГ, пг/мл	1098 ± 69,59	1143 ± 70,41	
ІЛ-10, нг/мл	0,95 ± 0,26	0,62 ± 0,22	
s-ІСАМ, нг/мл	386,90 ± 8,48	409,95 ± 16,36	
ФНП-α, нг/мл	4,96 ± 0,55	6,22 ± 1,45	
Адипонектин, мкг/мл	10,66 ± 0,75	9,00 ± 0,79	
Лептин, нг/мл	20,28 ± 1,54	13,66 ± 1,46	< 0,002
Резистин, нг/мл	2,89 ± 0,21	2,40 ± 0,25	
Гомоцистеїн, мкмоль/л	10,59 ± 0,45	11,30 ± 0,95	
Вітамін Е (γ-токоферол), мкмоль/л	3,58 ± 0,30	3,27 ± 0,31	
Вітамін Е (α-токоферол), мкмоль/л	41,51 ± 1,85	37,66 ± 1,13	
Вітамін А, мкмоль/л	2,74 ± 0,08	2,43 ± 0,07	< 0,01
Фолати, нмоль/л	13,83 ± 0,94	12,48 ± 0,71	
Вітамін В <sub>12</sub> , пг/мл	394,13 ± 21,64	394,54 ± 29,07	
Апо-А, г/л	1,42 ± 0,03	1,41 ± 0,03	
Апо-В, г/л	1,00 ± 0,04	1,01 ± 0,04	
Тригліцериди, ммоль/л	2,47 ± 0,34	1,90 ± 0,16	
Загальний холестерин, ммоль/л	5,86 ± 0,16	5,83 ± 0,18	
Холестерин ЛПВГ, ммоль/л	1,16 ± 0,06	1,17 ± 0,05	
Холестерин ЛПНГ, ммоль/л	3,58 ± 0,19	3,80 ± 0,15	
Feз, мкмоль/л	16,71 ± 0,83	20,33 ± 1,0	< 0,01
FeГ (розрахований %)	28,42 ± 1,70	33,83 ± 1,73	< 0,05
Трансферин, г/л	2,90 ± 0,08	2,89 ± 0,06	
Феритин, мкг/л	154,79 ± 32,72	147,93 ± 20,84	
НЗЗЄ, мкмоль/л	45,17 ± 2,18	40,49 ± 1,60	
Fe-АП, мкмоль/мл	989,93 ± 48,17	912,49 ± 24,10	

Т а б л и ц я 2 (Окончание. Нач. см. на с. 9.)

1	2	3	4
Антирадикальний захист, мкмоль/л	300,68 ± 4,16	314,20 ± 6,68	0,1 > P > 0,05
Гідропероксидази, Од/мл	354,41 ± 7,09	338,31 ± 14,11	
Б-SH, мкмоль/л	330,84 ± 10,68	332,11 ± 7,73	
МДА, мкмоль/л	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	
Супероксиддисмутаза, Од/мл	120,83 ± 3,21	115,94 ± 3,35	
Глутатіонредуктаза, Од/л	1566,45 ± 59,33	1453,43 ± 66,32	
Глутатіонпероксидаза, Од/л	9674,09 ± 298,46	10507,49 ± 286,39	< 0,05
Загальний глутатіон, мкмоль/л	935,86 ± 44,47	924,84 ± 44,03	
GSSG, мкмоль/л	201,19 ± 16,34	224,89 ± 18,03	
GSH, мкмоль/л	547,31 ± 52,04	515,41 ± 50,45	
GSSG/GSH	0,90 ± 0,20	0,83 ± 0,16	
Гаптоглобін, г/л	1,52 ± 0,08	1,58 ± 0,08	
Сечова кислота, мкмоль/л	309,80 ± 13,34	293,71 ± 9,62	
Білірубін-Т, мкмоль/л	9,03 ± 0,56	9,98 ± 0,60	
Креатинін, мкмоль/л	66,35 ± 1,79	69,16 ± 2,24	

П р и м і т к а. Feз — загальне залізо, Fe-АП — залізовідновлююча активність, FeТ — залізо, зв'язане з трансфериним, НЗЗЄ — ненасичена залізовв'язуюча ємність, МДА — малоновий діальдегід, ІЛ-10 — інтерлейкін 10, ФНП-α — фактор некрозу пухлин альфа, s-ICAM — розчинні адгезивні молекули, Р-КППГ — рецептори до кінцевих продуктів посиленого глікозилювання, вч СРБ — високочутливий С-реактивний білок, GSSG/GSH — відношення окиснений глутатіон / відновлений глутатіон в еритроцитах. <sup>1</sup>Індекс «ДЗОазна активність / ПОазна активність».

рівнів заліза ( $P < 0,01$ ) та зниження вітаміну А ( $P < 0,01$ ), але зважаючи на ступінь значущості цих змін щодо контрольних показників (для Fe  $0,1 > P > 0,05$ ), як і виразність (для вітаміну А у хворих на ЦД 2 типу носіїв  $QQ - 2,74 \pm 0,09$  мкмоль/л, у відповідних за фенотипом контрольних осіб  $2,36 \pm 0,08$  мкмоль/л) маловірогідною видається їх патолофізіологічна сутність.

Таким чином, за отриманими результатами вперше охарактеризовано фенотипи антиоксидантного ферменту параоксонази в українській популяції хворих на ЦД 2 ти-

пу, доведена ефективність сполученого визначення генотипу та фенотипу цього ферменту для коректної оцінки PON1 статусу у вищенаведеного загалу, зокрема, для оцінки внеску метаболічних зсувів до його формування. Окрім того, обґрунтована перспективність динамічної характеристики фенотипів параоксонази для удосконалення та моніторингу антидіабетичної терапії, скерованої на зменшення руйнівної дії патогенетичних ланок цієї патології та її судинних ускладнень.

## ВИСНОВКИ

1. У хворих на ЦД 2 типу верифіковано збереження детермінуючого значення  $Q192R/PON1$  генотипу для патерну субстрат-залежної (діазоксон та параоксон) гі-

дролізуючої активності ферменту в сироватці крові.

2. Проведена у обстеженого діабетичного загалу ідентифікація PON1 фенотипу за

співвідношенням діазоксоназної активності до параоксоназної довела його співпадіння з *PON1* генотипом та можливість коректної оцінки впливу метаболічного дисбалансу на експресію біологічної активності ферменту *PON1*.

3. За відсутності у хворих на ЦД 2 типу ефекту метаболічної дисрегуляції (глюкоза та ліпотоксичності) на діазоксоназну активність в сироватці крові ідентифіковано значуще зниження параоксоназної активності тільки у гетерозигот (*QR*) за умов збереження фенотипу ферменту, що визначався генотипом, а саме, суттєве переважання параоксоназної активності у носіїв *QR* vs *QQ*.

4. Визначена модулююча роль поліморфізму *Q192R* гена *PON1* в експресії деяких гормональних та біохімічних показників (підвищення рівнів циркулюючого ле-

птину та зниження концентрації глутатіонпероксидази в еритроцитах хворих на ЦД 2 типу з *QQ* генотипом vs *QR* генотипу).

5. У обстеженого діабетичного загалу доведена наявність зворотного зв'язку між діазоксоназною та параоксоназною активностями *PON1*, як і комплексної, часто протилежної за спрямованістю асоціації між останніми та складовими, що визначають гормонально-метаболічний статус, притаманний ЦД 2 типу, зокрема, пряма та зворотна кореляція з лептином, відповідно, для діазоксонази та параоксонази.

6. Обґрунтована перспективність сполученого визначення генотипу та фенотипу *Q192R PON1* для характеристики індивідуального *PON1* статусу хворих на ЦД 2 та визначення алгоритму антидіабетичної терапії.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Maritim A. C.* Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review [Text] / A. C. Maritim, R. A. Sanders, J. B. Watkins // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* — 2003. — Vol. 17. — P. 24–38.
2. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein [Text] / A. D. Watson, J. A. Berliner, S. Y. Hama [et al.] // *J. Clin. Invest.* — 1995. — Vol. 96, № 6. — P. 2882–2891.
3. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants [Text] / M. Aviram, M. Rosenblat, S. Billecke [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 26, № 7–8. — P. 892–904.
4. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities [Text] / M. Aviram, E. Hardak, J. Vaya [et al.] // *Circulation.* — 2000. — Vol. 101, № 21. — P. 2510–2517.
5. Promoter polymorphism T(-107)C of the paraoxonase *PON1* gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients [Text] / R. W. James, I. Leviev, J. Ruiz [et al.] // *Diabetes.* — 2000. — Vol. 49, № 8. — P. 1390–1393.
6. Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is *PON1(192)* or *PON1(55)* genotype [Text] / G. P. Jarvik, L. S. Rozek, V. H. Brophy [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2000. — Vol. 20, № 11. — P. 2441–2447.
7. The antioxidant function of high density lipoproteins: a new paradigm in atherosclerosis [Text] / M. Tomás, G. Latorre, M. Sentí, J. Marrugat // *Rev. Esp. Cardiol.* — 2004. — Vol. 57, № 6. — P. 557–569.
8. The influence of *PON1 192* polymorphism on endothelial function in diabetic subjects with or without hypertension [Text] / C. Irace, C. Cortese, E. Fiaschi [et al.] // *Hypertens. Res.* — 2008. — Vol. 31, № 3. — P. 507–513.
9. Proteomic characterization of oxidative dysfunction in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by exposure to oxidized LDL [Text] / T. Kinumi, Y. Ogawa, J. Kimata [et al.] // *Free Radic. Res.* — 2005. — Vol. 39. — P. 1335–1344.
10. *Mackness M. I.* The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention [Text] / M. I. Mackness, P. N. Durrington, B. Mackness // *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* — 2004. — Vol. 4. — P. 211–217.
11. *Горшунська М. Ю.* Активність параоксонази у жінок, хворих на цукровий діабет 2 типу: кореляція з параметрами оксидативного стресу, ліпідного профілю та глікемічного контролю [Текст] / М. Ю. Горшунська // *Ендокринологія.* — 2001. — Т. 6, № 2. — С. 160–165.
12. *Mastorikou M.* Defective metabolism of oxidized phospholipid by HDL from people with type 2 diabetes [Text] / M. Mastorikou, M. Mackness, B. Mackness // *Diabetes.* — 2006. — Vol. 55, № 11. — P. 3099–3103.
13. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus [Text] / M. Flekac, J. Skrha, K. Zídková [et al.] // *Physiol. Res.* — 2008. — Vol. 57, № 5. — P. 717–726.
14. Advanced glycoxidation end products in chronic diseases-clinical chemistry and genetic background [Text] / M. Kalousová, T. Zima, V. Tesar [et al.] // *Mutat. Res.* — 2005. — Vol. 579. — P. 37–46.
15. Genetic polymorphism and inter-ethnic variability of plasma paraoxonase activity [Text] / J. Playfer, L. C. Eze, M. F. Bullen, D. A. P. Evans // *J. Med. Genet.* — 1976. — Vol. 13. — P. 337–342.
16. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism [Text] / R. Humbert, D. A. Adler, C. M. Disteche [et al.] // *Nat. Genet.* — 1993. — Vol. 3. — P. 73–76.
17. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis [Text] / D. M. Shih, L. Gu, Y. R. Xia [et al.] // *Nature.* — 1998. — Vol. 394, № 6690. — P. 284–287.
18. *Durrington P. N.* Paraoxonase and atherosclerosis [Text] / P. N. Durrington, B. Mackness, M. I. Mackness

// Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2001. — Vol. 21. — P. 473–480.

19. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin [Text] / H.G. Davies, R.J. Richter, M. Keifer [et al.] // Nat. Genet. — 1996. — Vol. 14. — P. 334–336.

20. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice [Text] / A. Tward, Y.R. Xia, X.P. Wang [et al.] // Circulation. — 2002. — Vol. 106, № 4. — P. 484–490.

21. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes [Text] / J. Ruiz, H. Blanche, R.W. James [et al.] // Lancet. — 1995. — Vol. 346. — P. 869–872.

22. Genetic Polymorphism of Paraoxonase and the Risk of Coronary Heart Disease [Text] / D.K. Sanghera, N. Saha, C.E. Aston, M.I. Kamboh // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 1997. — Vol. 17. — P. 1067–1073.

23. A 192Arg variant of the human paraoxonase (HUMPONA) gene polymorphism is associated with an increased risk for coronary artery disease in the Japanese [Text] / T. Zama, M. Murata, Y. Matsubara [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 1997. — Vol. 17. — P. 3565–3569.

24. Paraoxonase 192 Gln/Arg gene polymorphism, coronary artery disease, and myocardial infarction in type 2 diabetes [Text] / M. Pfohl, M. Koch, M. Enderle [et al.] // Diabetes. — 1999. — Vol. 48, № 3. — P. 623–627.

25. The Gln/Arg polymorphism of human paraoxonase (PON192) is not related to myocardial infarction in the EC-TIM Study [Text] / S.M. Herrmann, H. Blanc, O. Poirier [et al.] // Atherosclerosis. — 1996. — Vol. 126. — P. 299–303.

26. The role of genetic polymorphisms in environmental health [Text] / S.N. Kelada, D.L. Eaton, S.S. Wang [et al.] // Environ. Health. Perspect. — 2003. — Vol. 111, № 8. — P. 1055–1064.

27. Richter R. Determination of paraoxonase (pon1) status requires more than genotyping [Text] / R. Richter, C.E. Furlong // Pharmacogenetics. — 1999. — Vol. 9. — P. 745–753.

28. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? [Text] / B. Mackness, G.K. Davies, W. Turkie [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2001. — Vol. 21. — P. 1451–1457.

29. Nishio E. Cigarette smoke extract inhibits plasma paraoxonase activity by modification of the enzyme's free thiols [Text] / E. Nishio, Y. Watanabe // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1997. — Vol. 236. — P. 289–293.

30. Феритин та інші показники обміну заліза: корелятивні зв'язки з маркерами атерогенезу у хворих на цукровий діабет 2 типу за наявності метаболічного синдрому [Текст] / М.Ю. Горшунська, Ю.І. Караченцев, Н.С. Красова [та ін.] // Пробл. ендокрин. патології. — 2007. — № 2. — С. 5–12.

## ФЕНОТИПІЧНИЙ ПАТЕРН ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ПАРАОКСОНАЗИ (SNP *Q192RPON1*) У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Горшунська М.Ю.

*Харківська медична академія післядипломної освіти*

Досліджено внесок генетичного та метаболічного чинників поліморфізму гена *PON1* (*Q192RPON1* генотипу) та глюко- і ліпотоксичності до формування функціональних характеристик ферменту (субстрат-залежна гідролізуюча активність щодо параоксону та діазоксону) у хворих на ЦД 2 типу при динамічному дослідженні. У хворих на ЦД 2 типу визначено значуще зниження в циркуляції параоксоназної активності. Доведено, що за умов збереження детермінуючого значення *Q192RPON1* генотипу для фенотипу модулюючий вплив метаболічного дисбалансу, а саме значуще зниження параоксоназної активності верифіковано тільки у носіїв *QR* (гетерозигот), яким притаманний генетично-визначений дуже високий темп параоксон-гідролізуючої активності vs *QQ* (гомозиготи). З іншого боку, у гомозигот *QQ* (vs *QR*) діагностовано більш виразні зсуви гормонально-метаболічних показників інсулінорезистентності та оксидативного стресу (підвищення рівнів циркулюючого лептину та зниження концентрації глутатіонпероксидази). В українській популяції хворих на ЦД 2 типу підтверджена доцільність сполученого визначення генотипу *Q192RPON1* та його фенотипу для характеристики індивідуального *PON1* статусу.

К л ю ч о в і с л о в а: параоксоназа, генетичний поліморфізм, цукровий діабет 2 типу.

## ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ПАРАОКСОНАЗИ (*Q192RPON1*) У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Горшунская М.Ю.

*Харьковская медицинская академия последипломного образования*

Изучен вклад генетических и метаболіческих факторов, соответственно, полиморфизма гена *PON1* (*Q192RPON1* генотипа) и глюко- и липотоксичности в формирование функциональных характеристик фермента (субстрат-зависимая гидролизующая активность относительно параоксона и диазоксона) при динамическом исследовании больных СД 2 типа. Показано, что, при условии сохранения детерминирующего значения *Q192RPON1* генотипа для паттерна фенотипа, модулирующее влияние метаболіческого дисбаланса, а именно значительное снижение параоксоназной активности верифицировано только у носителей *QR* (гетерозигот), которым присущ генетически обусловленный очень высокий темп параоксон-гидролизующей активности vs *QQ* (гомозиготы). С другой стороны, у гомозигот *QQ* vs гетерозиготы *QR* диагностированы более выразительные сдвиги гормонально-метаболіческих показателей инсулинорезистентности и оксидативного стресса (повышение уровней циркулирующего лептина и снижение концентрации глутатіонпероксидазы). В украинской популяции больных СД 2 типа подтверждена целесообразность сочетанного определения генотипа *Q192RPON1* и его фенотипа для характеристики индивидуального *PON1* статуса.

К л ю ч е в ы е с л о в а: параоксоназа, генетический полиморфизм, сахарный диабет 2 типа.

## PHENOTYPE PATTERN OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF PARAOXONASE GENE (*Q192RPN1*) IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS

M. Yu. Gorshunskya

*Kharkiv Postgraduate Medical Academy*

We studied the input of genetic and metabolic factors (*PON1* gene polymorphism — *Q192RPN1* genotype and glucolypotoxicity, respectively) to formation of enzyme functional characteristics in Type 2 diabetic patients (n = 31). Phenotyping of 79 blood samples was done by using PON1 rates of hydrolysis is of paraoxon (POase activity) and diazoxon (DZOase activity). POase activity was generally lower in diabetics than in control subjects. It was also found that against the background of conservation a determinant role of *Q192RPN1* genotype for its phenotype the modulating impact of metabolic disturbances (a namely significant decrease in POase activity) was verified only in patients with *QR* genotype, which have been characterized significant more higher POase activity vs *QQ* genotype. On the other hand, there were diagnosed more pronounced hormonal-metabolic disturbances related to insulin resistance and oxidative stress in *QQ* homozygotes vs *QR* heterozygotes (increase in circulating leptin levels and decrease in erythrocyte glutathionperoxidase concentrations). We also confirmed that diazoxonase / paraoxonase activities index provides *PON1* phenotype and genotype and an accurate inference of *PON1* genotype. Both are important parameters for determining an individual's *PON1* status in Ukrainian Type 2 diabetes population.

**Key words:** paraoxonase, genetic polymorphism, Type 2 diabetes.